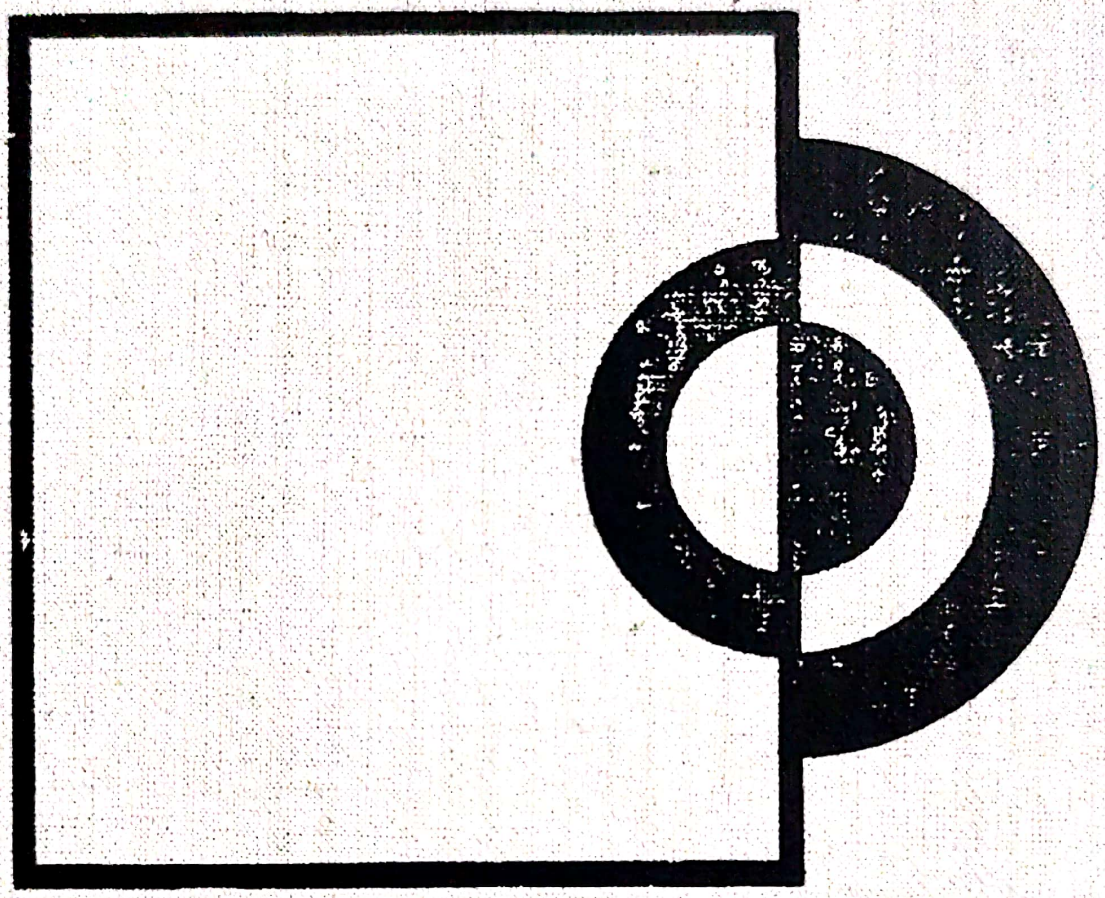
C. VELICAN DOINA VELICAN



etiopatogenia ATEROSCLEROZEI

Scanned with OKEN Scanner

PREFAȚĂ

Prezenta monografie își propune să aducă o modestă contribuție la cunoașterea factorilor și mecanismelor implicate în apariția și evoluția aterosclerozei, problemă prioritară a sănătății publice și în țara noastră.

Termenul de ateroscleroză, așa cum este folosit în paginile acestui volum, nu are semnificația vagă de patologie vasculară cronică, nu este echivalent cu cel de hipercolesterolemie sau hiperlipoproteinemie și nici nu se referă la simple turburări metabolice induse de factori de mediu. El definește o afectare specifică a arterelor mari și mijlocii, rezultînd din interacțiuni complexe între coloana de sînge în mișcare, constituenții structurali ai peretelui arterial și componentele plasmatice ce traversează acest perete.

Cele șase capitole ale monografiei, susțin ipoteza că ateroscleroza este o boală multifactorială, cu etiologie încă puțin cunoscută și cu o patogenie extrem de variată. Această boală se dezvoltă și evoluează numai în condițiile create de anumite stresuri hemodinamice și are ca substrat lezional caracteristic, placa aterosclerotică. Sub acțiunea factorilor de risc, în special a hipertensiunii arteriale, hipercolesterolemiei și tabagismului, placa prezintă o evoluție mai rapidă spre forme complicate, obstructive, determinînd la un număr mai mare de subiecți trecerea bolii din stadiul preclinic în cel al manifestărilor clinice. O atenție deosebită a fost acordată descrierii mecanismelor prin intermediul cărora factorii de risc sînt implicați în patogenia aterosclerozei și evaluării posibilităților actuale de a diminua influența lor nocivă cu scopul de a reduce, în primul rînd, incidența cardiopatiei ischemice.

Cartea include numeroase subcapitole în care sînt prezentate probleme noi legate de etiopatogenia aterosclerozei: rolul aterogen al stresului de dragare; eroziunile endoteliale ca punct de plecare al histogenezei plăcilor aterosclerotice; prevalența glicolizei anaerobe ca factor determinant al susceptibilității la ateroscleroză; rolul receptorilor membranei celulelor musculare din peretele arterial și al lizozomilor respectivelor celule în acumulările lipidice cu caracter patologic; efectele aterogene și antiaterogene ale anumitor clase de lipoproteine și anumitor mucopolizaharide acide din substanța fundamentală a peretelui arterial; procesele imune și ateregeneza; dezvoltarea plăcilor aterosclerotice după patern-*ul tumorilor benigne ale țesutului muscular; afectarea arterelor coronare de copii; gradul de reversibilitate a leziunilor de aterosclero-*

Scanned with OKEN Scanner

roză; mecanismul acțiunii medicației ce blochează formarea fibrelor de colagen, sinteza endogenă a colesterolului și trigliceridelor, agregarea trombocitelor etc.; semnificația etiopatogenică a aterosclerozei spontane a animalelor.

Sperăm ca materialul prezentat să constituie o sursă utilă de informare pentru medici, biologi, biochimiști, farmaciști și studenți în medicină privind stadiul actual al problemei etiopatogeniei aterosclerozei; de asemenea, sperăm ca modul de prezentare să constituie un ghid critic de orientare în labirintul de date existente în acest domeniu atît de controversat. Răspundem, prin aceasta și solicitărilor primite de la colegii care au urmat cursurile noastre de reciclare la Institutul de Medicină Internă al Spitalului Clinic Colentina și care au dorit o formă tipărită a acelor cursuri.

Cu toată bogăția de date noi, monografia lasă fără răspuns probleme de bază ale etiopatogeniei aterosclerozei. De aceea cartea nu se sfîrșește cu concluzii, prezentate în general cu scopul de a impune atenției cititorului anumite teorii și orientări considerate a avea o valoare mai deosebită. Cînd nu putem încă explica: de ce aproape toți adulții au plăci aterosclerotice în aortă și arterele coronare; cum apar și evoluează leziunile care produc accidentele vasculare cerebrale; ce legătură există între afectarea aterosclerotică a arterelor coronare de copii și cardiopatia ischemică a adultului și vîrstnicului; dacă actuala „epidemie" de infarcte de miocard este datorită aterosclerozei, sau unei afecțiuni cu caracter trombozant suprapusă aterosclerozei; cum se „autoprotejează" anumite grupe de populații și anumiți subiecți împotriva factorilor de risc; ce stă la baza „imunității" relative a femeilor adulte față de infarctul de miocard; de ce fac infarct de miocard bărbați adulți și vîrstnici normotensivi, normocolesterolemici, nefumători și nediabetici etc. etc., — concluziile nu ar avea decît valoarea unor speculații. Or, domeniul aterosclerozei, mai mult decît oricare alt domeniu al medicinei este suprasaturat de speculații, păreri personale, asocieri întîmplătoare prezentate drept relații cauzale, simple ipoteze prezentate drept adevăruri confirmate, analogii bazate pe deducții, date experimentale transpuse necritic în patologia umană. Situația pare, pînă la un anumit punct, similară perioadei din istoria diabetului ce a precedat descoperirea insulinei. Domeniul etiopatogeniei devenise un vast cîmp de speculații, iar posibilitățile de a opri agravarea diabetului se bazau, ca și astăzi în ateroscleroză, pe efectele limitate ale dietei. Avem convingerea că această lungă perioadă de incertitudini și căutări din istoria aterosclerozei va fi curînd depășită, prin descoperirea agenților etiologici și a unor mijloace mult mai eficace decît cele de care dispunem în prezent, spre a preveni manifestările clinice ale bolii.

În încheiere, mulțumim tov. dr. GRIGORE DUMITRESCU, directorul Spitalului clinic Colentina, pentru înțelegerea arătată și sprijinul dat studiului nostru asupra istoriei naturale a aterosclerozei. Mulțumim directorului Institutului de medicină legală din București, precum și colegilor dr. MARIA ANGHELESCU, și S. POPESCU-MICLOȘANU, pentru piesele ce ne-au îmbogățit colecția de artere a laboratorului. Mulțumim colaboratoarelor noastre MARGARETA TEODORESCU, pentru ajutorul dat în munca de documentare, MARIA BOGOVICI, pentru calitatea secțiunilor microscopice, FLORINA FILIP, ELENA ALEXANDRESCU și ILEANA RIZEA, pentru contribuția la prelucrarea tehnică a pieselor, precum și tov. M. FEDEA, pentru calitatea microfotografiilor. În sfîrșit, mulțumim tuturor colegilor și editurilor care ne-au permis publicarea unor reproduceri, precum și Editurii Medicale, pentru modul de prezentare a acestei cărți.

AUTORII

Scanned with OKEN Scanner

TABLA DE MATERII

Pag.

DATE CU CARACTER INTRODUCTIV 23

A. Evoluţia noţiunii de ateroscleroză 23

1. Delimitarea aterosclerozei ca entitate anatomo-clinică 23
2. Formularea primelor teorii privind etiopatogenia bolii 25
   a. Teoria hemodinamică 25
   b. Teoria trombogenă 26
   c. Teoria filtrării lipidelor 27
3. Teorii, ipoteze şi descoperiri recente 28

B. Conceptul actual de ateroscleroză 29

1. Originea multifactorială a bolii 29
2. Ateroscleroza, boală a peretelui arterial 31
3. Factorii de risc ai aterosclerozei 33
   a. Date cu caracter general 33
   b. Aspecte particulare 36
   c. Valoare predictivă 42

II. ROLUL ATEROGEN POTENŢIAL AL STRESURILOR HEMODINAMICE .. 46

A. Interrelaţiile stres hemodinamic — perete arterial 46
1. Date introductive 46
2. Forţe hemodinamice cu potenţialităţi aterogene 48
3. Modificări celulare induse de factori hemodinamici 52
   a. Celulele endoteliale 52
   b. Celulele musculare 54
4. Variabilitatea adaptării structurale a arterelor 56
   a. Arterele coronare 58
   b. Arterele cerebrale 67
   c. Aorta 69

B. Efecte aterogene ale stresurilor hemodinamice, corelate cu revascularizarea chirurgicală a miocardului 71

1. Agravarea leziunilor preexistente în arterele coronare 72
2. Apariţia de leziuni în segmentul de venă grefat 73

C. Efecte aterogene corelate cu descărcările de catecolamine 75

1. Date cu caracter general 75
2. Modificări ale peretelui arterial induse de adrenalină 77

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

D. Efecte aterogene corelate cu hipertensiunea arterială 79

1. Date introductive 79
2. Modificări vasculare de ordin adaptativ 80
3. Accelerarea apariţiei şi evoluţiei leziunilor 84

III. ROLUL ATEROGEN POTENŢIAL AL COMPONENTELOR PERETELUI ARTERIAL 87

A. Particularităţi metabolice ale arterelor 87

1. Date introductive 87
2. Prevalenţa glicolizei anaerobe 90
3. Efectul aterogen al hipoxiei 94

B. Endoteliul 97

1. Particularităţi structurale şi ultrastructurale 97
2. Mecanisme implicate în permeabilitatea selectivă 100
3. Modificări induse de agresiuni 102
4. Contracţia celulelor endoteliale 103
5. Diminuarea activităţii fibrinolitice 105
6. Efectele agregării trombocitelor 107

C. Celula musculară netedă 109

1. Date introductive 109
2. Capacitatea de sinteză 111
3. Aspecte generale ale *patern*-ului enzimatic 111
4. Aspecte particulare ale *patern*-ului enzimatic 114
5. Reţinerea electivă a β-lipoproteinelor 116

D. Substanţa fundamentală (mucopolizaharide acide şi glicoproteine) 120

1. Mucopolizaharide acide 120
   a. Date introductive 120
   b. Acidul hialuronic 120
   c. Condroitin sulfaţii 122
   d. Dermatan sulfatul 123
   e. Heparina 125
   f. Heparan sulfatul 126
   g. Keratan sulfatul 128
   h. Particularităţile procesului de sinteză a mucopolizaharidelor acide 128
   i. Degradarea mucopolizaharidelor acide 129
   j. Acţiuni enzimatice complexe 131
   k. Alte acţiuni degradative 133
   l. Interacţiuni mucopolizaharide-lipoproteine 134
2. Glicoproteine 134
   a. Funcţiile glicoproteinelor din artere 138
   b. Particularităţi metabolice 139
   140

E. Ţesutul elastic (elastina) 143

1. Date introductive 143
2. Structură şi sinteză 143
   a. Compoziţia chimică a elastinei 144
   b. Particularităţi ale procesului de sinteză 144
3. Interferenţe cu procesul de formare a fibrelor 148
   a. Interferenţe metabolice 150
   b. Interferenţe hemodinamice 150
4. Rolul elastazei 152
5. Interrelaţiile elastină-lipide 152
6. Calcificarea elastinei 154
   156

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

F. Fibrele de colagen 159

1. Date introductive 159
2. Macromolecula de colagen 160
   a. Structură 160
   b. Sinteză 163
   c. Fibrilogeneză 166
   d. Stabilizarea fibrelor 168
3. Interferenţe metabolice 169
   a. Hormonii şi mediatorii chimici 169
   b. β-aminopropionitrilul şi penicilamina 170
   c. Homocisteina 172
   d. Substanţe varia 172
4. Degradarea fibrelor 173

IV. ROLUL ATEROGEN POTENŢIAL AL COMPONENTELOR SANGUINE 176

A. Lipoproteinele 176

1. Date introductive 176
2. Particularităţi structurale şi funcţionale ale lipoproteinelor 178
   a. Date cu caracter general 178
   b. Aspecte particulare 180
3. Aspecte de interconversiune 186
   a. Conversiunea pre β în β-lipoproteine 186
   b. Conversiunea chilomicroni -α-lipoproteine (?) 190
4. Hiperlipoproteinemii cu potenţialităţi aterogene 191
5. Metabolismul colesterolului 195
   a. Sinteza colesterolului liber 195
   b. Elaborarea acizilor graşi necesari esterificării colesterolului 200
   c. Esterificarea colesterolului liber 201
6. Relaţia colesterol-leziune de ateroscleroză 205
7. Încercări de terapeutică patogenică 209
   a. Dieta 210
   b. Medicaţia hipolipemiantă 213
      Clofibratul sau atromid S 215
      Acidul nicotinic 217
      Secvestranţi de acizi biliari 218
      Substanţe varia 220

B. Fibrinogenul 222

1. Date introductive 222
2. Organizare macromoleculară, conversiune şi degradare 224
   a. Organizarea macromoleculară a fibrinogenului 224
   b. Conversiunea fibrinogen-fibrină 227
   c. Probleme de catabolism 230
3. Fibrinogenul din peretele arterial 231

C. Trombocitele 233

1. Date introductive 233
2. Particularităţi structurale şi funcţionale 235
   a. Organizare celulară 235
   b. Modificări induse de procesul de agregare 237
   c. Reacţia de eliberare 239
   d. Efectele stresurilor hemodinamice 240
3. Interrelaţii trombocite-colagen 243
4. Interrelaţii trombocite-lipide 247

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

5. Încercări de terapeutică patogenică 251
a. Aspirina 252
b. Substanţe varia 256

V. MECANISME PATOGENICE IMPLICATE ÎN HISTOGENEZA PLĂCILOR ATEROSCLEROTICE 259

A. Date introductive 259

1. Metode de apreciere cantitativă a leziunilor 260
2. Incidenţa leziunilor corelată cu vîrsta, sexul, rasa şi patologia geografică 263

B. Rolul aterogen al unor factori fizici 266

1. Agresiuni mecanice 266
a. Date introductive 266
b. Observaţii experimentale 267
c. Observaţii asupra arterelor de om 271

C. Rolul aterogen al unor factori chimici şi biologici 273

1. Procesele imune 273
a. Date introductive 273
b. Antigene arteriale 274
c. Arteriopatii prin imunizare 276
2. Mutaţiile 278
3. Dereglări ale activităţilor enzimatice 280

D. Modificări ale peretelui arterial considerate precursorii plăcilor aterosclerotice 283

1. Striurile lipidice 283
a. Date cu caracter general 283
b. Conversiunea striurilor în plăci 284
2. Plăcile gelatinoase 287
3. Microtrombii 288
4. Îngroşarea intimei 290

E. Ateroscleroza la copii, adolescenţi şi adulţii tineri 292

1. Particularităţi lezionale 292
2. Factorii de risc 301

F. Reversibilitatea leziunilor de ateroscleroză 304

1. Date introductive 304
2. Regresiune prin diete hipolipemiante 306
3. Regresiune prin medicaţie hipolipemiantă 309

VI. ETIOPATOGENIA ATEROSCLEROZEI ÎN LUMINA DATELOR DE PATOLOGIE COMPARATĂ ŞI EXPERIMENTALĂ 313

A. Patologia comparată 313

1. Date cu caracter general 313
a. Leziunile de ateroscleroză 313
b. Factorii de risc la păsări şi mamifere 314
2. Aspecte particulare 316
a. Maimuţe 316
b. Porci 318
c. Bovidee 319
d. Pisici 319

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

e. Cîini 320
f. Elefanţi 320
g. Balene 320
h. Şobolani şi şoareci 321
i. Mamifere varia 321
j. Porumbei 322
k. Păsări varia 324

B. Patologia experimentală 324

1. Leziuni induse la maimuţe 324
2. Leziuni induse la porci 329
3. Leziuni induse la iepuri 330
   a. Observaţii cu caracter general 330
   b. Relaţii dietă-leziune 332
4. Leziuni induse la şobolani 334
5. Leziuni induse la cîini 336
6. Leziuni varia 337

BIBLIOGRAFIE 339

Scanned with OKEN Scanner

CONTENTS

	Page
I. INTRODUCTORY DATA	23
A. Evolution of knowledge on atherosclerosis	23
1. Atherosclerosis as an anatomo-clinical entity	23
2. Historical survey on atherosclerosis etiopathogenesis	25
a. Haemodynamic theory	25
b. Thrombogenic theory	26
c. Lipid filtration theory	27
3. Recent theories, hypothese and discoveries	28
B. Current concepts of atherosclerosis	29
1. Multifactorial origin of the disease	29
2. Atherosclerosis, disease of the arterial wall	31
3. Risk factors of atherosclerosis	33
a. General data	33
b. Particular aspects	36
c. Predictive value	42
II. POTENTIAL ATHEROGENIC ROLE OF HAEMODYNAMIC STRESSES	46
A. Haemodynamic stress — arterial wall relationships	46
1. Introductory data	46
2. Atherogenic potentialities of haemodynamic forces	48
3. Cellular changes induced by haemodynamic factors	52
a. Endothelial cells	52
b. Smooth muscle cells	54
4. Heterogeneity of the structural adaptation of arteries	56
a. Coronary arteries	58
b. Cerebral arteries	67
c. Aorta	69
B. Atherogenic effects of haemodinamic stress related to the myocardial revascularisation	71
1. Augmented severity of preexisting lesions in the coronary arteries	72
2. Onset of lesions in the grafted vein	73
C. Atherogenic effects related to catecholamine release	75
1. General data	75
2. Arterial wall changes induced by adrenalin	77

Scanned with OKEN Scanner

Page

D. Atherogenic effects related to arterial hypertension 79

1. Introductory data 79
2. Adaptive vascular changes 80
3. Accelerated onset and evolution of lesions 84

III. POTENTIAL ATHEROGENIC ROLE OF ARTERIAL WALL COMPONENTS 87

A. Metabolic peculiarities of arteries 87

1. Introductory data 87
2. Prevalence of anaerobic glycolysis 90
3. Atherogenic effect of hypoxia 94

B. Endothelial cells 97

1. Structural and ultrastructural peculiarities 97
2. Mechanisms of selective permeability 100
3. Injury — induced changes 102
4. Endothelial cell contraction 103
5. Decreased fibrinolytic activity 105
6. Consequences of platelet aggregation 107

C. Smooth muscle cells 109

1. Introductory data 109
2. Complexity of the process of synthesis 111
3. General aspects of the enzymatic pattern 111
4. Particular aspects of the enzymatic pattern 114
5. Elective pick-up of β-lipoproteins 116

D. Ground substance (acid mucopolysaccharides and glycoproteins) 120

1. Acid mucopolysaccharides 120
   a. Introductory data 120
   b. Hyaluronic acid 122
   c. Chondroitin sulfates 123
   d. Dermatan sulfate 125
   e. Heparin 126
   f. Heparan sulfate 128
   g. Keratan sulfate 128
   h. Particular aspects of acid mucopolysaccharide synthesis 129
   i. Degradation of acid mucopolysaccharides 131
   j. Complex enzymatic actions 133
   k. Additional degradative actions 134
   l. Acid mucopolysaccharide — lipoprotein relationships 134
2. Glycoproteins 138
   a. Functional role of arterial glycoproteins 139
   b. Metabolic peculiarities 140

E. Elastic tissue (Elastin) 143

1. Introductory data 143
2. Structure and synthesis 144
   a. Chemical composition of elastin 144
   b. Characteristics of the process of synthesis 148
3. Factors interfering elastin fibrillogenesis 150
   a. Metabolic interferences 150
   b. Haemodynamic interferences 152
4. Role of the elastase complex 152
5. Elastin — lipid relationships 154
6. Elastin calcification 156

Scanned with OKEN Scanner

Page

F. Collagen fibers 159

1. Introductory data 159
2. Collagen macromolecule 160
   a. Structure 160
   b. Synthesis 163
   c. Fibrillogenesis 166
   d. Stabilization of fibers 168
3. Metabolic interferences 169
   a. Hormones and catecholamines 169
   b. β-aminopropionitrile and penicillamine 170
   c. Homocysteine 172
   d. Miscellaneous substances 172
4. Degradation of fibers 173

IV. POTENTIAL ATHEROGENIC ROLE OF BLOOD COMPONENTS 176

A. Lipoproteins 176

1. Introductory data 176
2. Structural and functional peculiarities of lipoproteins 178
   a. General data 178
   b. Particular aspects 180
3. Interconversion of lipoprotein macromolecules 186
   a. Pre β → β lipoprotein conversion 186
   b. Chylomicron → α lipoprotein conversion 190
4. Atherogenic hyperlipoproteinemias 191
5. Cholesterol metabolism 195
   a. Free cholesterol synthesis 195
   b. Synthesis of fatty acids for cholesterol esterification 200
   c. Cholesterol esterification 201
6. Cholesterol — atherosclerotic lesion relationship 205
7. Attempts for a pathogenetic therapy 209
   a. Lipid-lowering diets 210
   b. Lipid-lowering drugs 213
      Clofibrate or Atromid S 215
      Nicotinic acid 217
      Bile acid sequestrants 218
      Other substances 220

B. Fibrinogen 222

1. Introductory data 222
2. Macromolecular organization, conversion and degradation 224
   a. Macromolecular organization of fibrinogen 224
   b. Fibrinogen — fibrin conversion 227
   c. Catabolism of fibrinogen and fibrin 230
3. The fibrinogen from the arterial wall 231

C. Platelets 233

1. Introductory data 233
2. Structural and functional peculiarities 235
   a. Cellular organization 235
   b. Aggregation induced changes 237
   c. Release reaction 239
   d. Effects of haemodynamic stresses 240
3. Platelet — collagen relationships 243
4. Platelet — lipid relationships 247

Scanned with OKEN Scanner

Page

5. Attempts for a pathogenetic therapy 251
a. Aspirin 252
b. Other substances 256

V. PATHOGENETIC MECHANISMS INVOLVED IN THE HISTOGENESIS OF ATHEROSCLEROTIC PLAQUES 259

A. Introductory data 259

1. Macroscopic gradients of lesions 260
2. Incidence of lesions related to age, sex, race and geographic pathology 263

B. Atherogenic role of some physical agents 266

1. Mechanical injuries 266
a. Introductory data 266
b. Experimental investigations 267
c. Studies on human arteries 271

C. Atherogenic role of some chemical and biologic agents 273

1. Immune processes 273
a. Introductory data 273
b. Arterial antigens 274
c. Arteriopathies induced by immunisation 276
2. Mutations 278
3. Alterations of enzymatic activities 280

D. Arterial wall changes acting as precursors of atherosclerotic plaques 283

1. Fatty streaks 283
a. General data 283
b. Fatty streak → atherosclerotic plaques conversion 284
2. Gelatious plaques 287
3. Microthrombi 288
4. Intimal thickening 290

E. Atherosclerosis of children, adolescents and young adults 292

1. Characteristics of lesions 292
2. Risk factors 301

F. Reversibility of atherosclerotic lesions 304

1. Introductory data 304
2. Regression induced by lipid-lowering diets 306
3. Regression induced by lipid-lowering drugs 309

VI. ATHEROSCLEROSIS ETIOPATHOGENESIS RELATED TO COMPARATIVE AND EXPERIMENTAL PATHOLOGY 313

A. Comparative pathology 313

1. General data 313
a. Atherosclerotic lesions in mammals and birds 313
b. Risk factors in mammals and birds 313
2. Particular aspects 314
a. Monkyes 316
b. Pigs 316
c. Cows 318
d. Cats 319
319

Scanned with OKEN Scanner

	Page
e. Dogs	320
f. Elephants	320
g. Whales	320
h. Rats and mice	321
i. Other mammals	321
j. Pigeons	322
k. Birds varia	324
B. Experimental pathology	324
1. Lesions induced in monkeys	324
2. Lesions induced in pigs	329
3. Lesions induced in rabbits	330
a. General data	330
b. Diet — lesion relationship	332
4. Lesions induced in rats	334
5. Lesions induced in dogs	336
6. Lesions induced in other animals	337
REFERENCES	339

Scanned with OKEN Scanner

СОДЕРЖАНИЕ

I. ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ДАННЫЕ 23

А. Развитие понятия атеросклероз **23**

1. Отграничение атеросклероза в качестве анатомо-клинического понятия 23
2. Формулирование первых теорий относительно этиологии и патогенеза атеросклероза 25
   а. Темодинамическая теория 25
   б. Тромбогенная теория 26
   в. Теория фильтрования липидов 27
3. Новейшие теории, гипотезы и открытия 28

Б. Современные концепции атеросклероза **29**

1. Мультифакториальное происхождение заболевания 29
2. Атеросклероз — болезнь артериальной стенки 31
3. Факторы риска атеросклероза 33
   а. Данные общего характера 33
   б. Особые аспекты 36
   в. Предиктивные критерии 42

II. ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ АТЕРОГЕННАЯ РОЛЬ ГЕМОДИНАМИЧЕСКИХ СТРЕССОВ 46

А. Соотношения: гемодинамический стресс — артериальная стенка **46**

1. Вступительные данные 46
2. Гемодинамические силы, обладающие атерогенным потенциалом 48
3. Индуцированные гемодинамическими факторами клеточные изменения 52
   а. Эндотелиальные клетки 52
   б. Мышечные клетки 54
4. Вариабельность структурной адаптации артерии 56
   а. Коронарные артерии 58
   б. Мозговые артерии 67
   в. Аорта 69

Б. Атерогенный эффект гемодинамических стрессов и их корреляция с хирургической реваскуляризацией миокарда **71**

1. Ухудшение предсуществовавших в коронарных артериях поражений.. 72
2. Появление поражений в сегменте пересаженной вены 73

В. Атерогенный эффект и его корреляции с разгрузками катехоламинов 75

1. Данные общего характера 75
2. Индуцированные адреналином изменения артериальной стенки 77

Г. Атерогенный эффект и его корреляция с артериальной гипертонией .. 79

1. Вступительные данные 79
2. Адаптивного характера сосудистые изменения 80
3. Ускорение появления и развития поражений 84

III. ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ АТЕРОГЕННАЯ РОЛЬ КОМПОНЕНТОВ АРТЕРИАЛЬНО СТЕНКИ 87

А. Метаболические особенности артерий 87

1. Предварительные данные 87
2. Преобладание анаэробного гликолиза 90
3. Атерогенный эффект гипоксии 94

Б. Эндотелий 97

1. Структурные и ультраструктурные особенности 97
2. Механизмы участвующие в селективной проницаемости 100
3. Индуцированные агрессией изменения 102
4. Сокращение эндотелиальных клеток 103
5. Снижение фибринолитической деятельности 105
6. Эффекты скопления тромбоцитов 107

В. Гладкая мышечная клетка 109

1. Вступительные данные 109
2. Способность к синтезу 111
3. Общие аспекты энзиматического патерн-а 111
4. Особые аспекты энзиматического патерн-а 114
5. Выборочная задержка бета-липопротеинов 116

Г. Основное вещество (кислые мукополисахариды и глюкопротеины, ... 120

1. Кислые мукополисахариды 120
   а. Вступительные данные 120
   б. Гиалуроновая кислота 122
   в. Хондролитин-сульфаты 123
   г. Дерматан-сульфаты 125
   д. Гепарин 126
   е. Гепарин-сульфаты 128
   ж. Кератан-сульфаты 128
   з. Особенности процессов синтеза кислых мукополисахаридов 129
   и. Деградирование кислых мукополисахаридов 131
   к. Комплексные энзиматические действия 133
   л. Другие деградирующие действия 134
   м. Взаимодействие: мукополисахариды — липопротеины 134
2. Гликопротеины 138
   а. Функции содержащихся в артериях гликопротеинов 139
   б. Метаболические особенности 140

Д. Эластическая ткань (эластин) 148

1. Вступительные данные 143
2. Структура и синтез 144
   а. Химический состав эластина 144
   б. Особенности процессов синтеза 148

Scanned with OKEN Scanner

3. Интерференция с процессами образования волокон 150
а. Метаболические интерференции 150
б. Гемодинамические интерференции 152
4. Роль эластазы 152
5. Соотношения: эластин — липиды 154
6. Кальцификация эластина 156

Е. Волокна коллагена **159**

1. Вступительные данные 159
2. Макромолекула коллагена 160
а. Структура 160
б. Синтез 163
в. Фибриллогенез 166
г. Стабилизация волокон 168
3. Метаболические интерференции 169
а. Гормоны и химические медиаторы 169
б. Бета-аминопропионитрил и пеницилламин 170
в. Гемоцистеин 172
г. Вещества «вариа» 172
4. Деградация волокон 173

IV. ПОТЕНЦИАЛЬНАЯ АТЕРОГЕННАЯ РОЛЬ КОМПОНЕНТОВ КРОВИ 176

А. Липопротеины **176**

1. Вступительные данные 176
2. Структурные и функциональные особенности липопротеинов 178
а. Данные общего характера 178
б. Особые аспекты 180
3. Аспекты взаимоконверсии 186
а. Конверсия «пре бета — бета-липопротеины» 186
б. Конверсия киломикронов в альфа-липопротеины 190
4. Гиперпротеинемия с атерогенными потенциалами 191
5. Метаболизм холестерина 195
а. Синтез свободного холестерина 195
б. Выработка жирных кислот необходимых для астерификации холестерина 200
в. Эстерификация свободного холестерина 201
6. Отношение: холестерин — поражения стеросклероза 205
7. Попытки патогенетической терапии 209
а. Диета 210
б. Гиполипемические медикаменты 213
Хлорфибрат или Атромид С 215
Никотиновая кислота 217
Секвестранты желчных кислот 218
Вещества «вариа» 220

Б. Фибриноген **220**

1. Вступительные данные 220
2. Макромолекулярная организация конверсии и деградация 224
а. Макромолекулярная организация фибриногена 224
б. Конверсия: фибриноген-фибрин 227
в. Проблемы катаболизма 230
3. Фибриноген содержащийся в артериальной стенке 231

В. Тромбоциты **233**

1. Вступительные данные 233
2. Структурные и функциональные особенности 235
а. Клеточная организация 235
б. Изменения индуцированные процессами агрегации 237

Scanned with OKEN Scanner

в. Реакция освобождения 239
г. Эффект гемодинамических стрессов 240
3. Взаимоотношения: тромбоциты-коллаген 243
4. Взаимоотношения: тромбоциты-липиды 247
5. Попытки патогенетического лечения 251
а. Аспирин 252
б. Вещества «вариа» 256

V. ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ УЧАСТВУЮЩИЕ В ГИСТОГЕНЕЗЕ АТЕРО-СКЛЕРОТИЧЕСКИХ ПЛАСТИНОК 259

А. Вступительные данные **259**

1. Методы количественной оценки поражений 260
2. Частота поражений в зависимости от возраста, пола, расы и географической патологии 263

Б. Атерогенная роль некоторых физических факторов **266**

1. Механические агрессии 266
а. Вступительные данные 266
б. Экспериментальные наблюдения 267
в. Наблюдение артерий у человека 271

В. Атерогенная роль некоторых химических и биологических факторов **273**

1. Иммунные процессы 273
а. Вступительные данные 273
б. Артериальные антигены 274
в. Артериопатии обусловливаемые иммунизацией 276
2. Мутации 278
3. Расстройства энзиматической деятельности 280

Г. Изменения артериальной стенки считающиеся предшественниками атеросклеротических пластинок **283**

1. Липидные полосы 283
а. Данные общего характера 283
б. Превращение липидных полос в пластинки 284
2. Желатиновые пластинки 287
3. Микротромбы 288
4. Утолщения интимы 290

Д. Атеросклероз у детей, подростков и взрослых молодых людей **292**

1. Особенности поражений 292
2. Факторы риска 301

Е. Обратимость поражений атеросклероза **304**

1. Вступительные данные 304
2. Регрессия при помощи гиполипемической диеты 306
3. Регрессия при помощи гиполипемического лекарственного лечения .. 309

VI. ЭТИОЛОГИЯ И ПАТОГЕНЕЗ АТЕРОСКЛЕРОЗА В СВЕТЕ ДАННЫХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ И СРАВНИТЕЛЬНОЙ ПАТОЛОГИИ 313

А. Сравнительная патология **313**

1. Данные общего характера 313
а. Поражения атеросклероза 313
б. Факторы риска у птиц и млекопитающих 314

Scanned with OKEN Scanner

2. Особые аспекты 316
а. Обезьяны 316
б. Свиньи 318
в. Крупный рогатый скот 319
г. Кошки 319
д. Собаки 320
е. Слоны 320
ц. Киты 320
з. Крысы и мыши 321
и. Различные млекопитающие 321
к. Голуби 322
л. Различные птицы 324

Б. Экспериментальная патология 324

1. Обусловливаемые у обезьян поражения 324
2. Обусловливаемые у свиней поражения 329
3. Обусловливаемые у кроликов поражения 330
а. Наблюдения общего характера 330
б. Отношение: диета-поражение 332
4. Обусловливаемые у крыс поражения 334
5. Обусловливаемые у собак поражения 336
6. Различные поражения 337

ЛИТЕРАТУРА 339

Scanned with OKEN Scanner

I. DATE CU CARACTER INTRODUCTIV

A. EVOLUŢIA NOŢIUNII DE ATEROSCLEROZĂ

1. DELIMITAREA ATEROSCLEROZEI CA ENTITATE ANATOMO-CLINICĂ

Prima descriere a ateroamelor aparţine şcolii lui VESALIUS (1514—1564). Efectuînd numeroase disecţii, mai ales la bătrîni, VESALIUS şi elevii săi menţionează prezenţa în artere, în special în porţiunea terminală a aortei, a unor formaţiuni nodulare, galbene-cenuşii, ce proeminau în lumenul vasului. Corelarea procesului de formare a ateroamelor cu senescenţa îi este atribuită lui FALLOPIUS (1575).

Urmărind cronologic etapele mai importante care au dus la conturarea pe plan morfologic şi clinic a ceea ce denumim astăzi ateroscleroză, se impun atenţiei unele dintre lucrările efectuate de WILLIAM HARVEY (1628). În aceste lucrări se susţine că „tensiunea nervoasă", datorată durerilor mari sau fricii, creează o stare de dezechilibru care s-ar repercuta asupra vaselor inimii, producînd o îmbătrînire precoce şi formarea de ateroame. Tot lui HARVEY i se atribuie şi prima descriere, în 1649, a unor leziuni miocardice cu aspect de infarct.

Un secol mai tîrziu, HALLER (1755) prezintă amănunţit particularităţile macroscopice, topografice şi evolutive ale ateroamelor. În aceeaşi perioadă, MORGAGNI (1761) include calcificarea în procesul de îmbătrînire a arterelor şi sugerează corelaţia dintre calcificare, apariţia ateroamelor şi formarea anevrismelor disecante.

În 1768, la Royal College of Physicians din Londra, HEBERDEN susţine existenţa unei boli pe care o denumeşte „angor pectoris", considerînd că ar fi produsă de spasme ale arterelor coronare.

La jumătatea secolului al XIX-lea, menţionăm apariţia lucrării lui C.J.B. WILLIAMS (1841) care include prima descriere anatomo-clinică a unui caz de infarct de miocard, boala fiind considerată a rezulta din obstrurarea arterelor coronare. MALMSTEN (1861) susţine că un anumit grad de stenozare a lumenului acestor artere este şi cauza apariţiei durerii în angina pectorală. Impulsionat de aceste observaţii, WEIGERT (1880) efectuează un studiu mai

Scanned with OKEN Scanner

amplu asupra corelației dintre starea anatomică și funcțională a arterelor coronare și a miocardului. Date suplimentare sînt publicate de BAUMGARTNER (1899) care folosește pentru prima dată radiografiile postmortem ale vaselor opacifiate, spre a determina cu mai multă precizie gradul de obstrucție, precum și topografia segmentului obstruat.

În ceea ce privește terminologia, s-a păstrat, de-a lungul secolelor, denumirea de „aterom", cunoscută încă de pe vremea lui ARISTOTEL, pentru a desemna plăcile galbene-cenușii ce proemină în lumenul arterei. În 1829 LOBSTEIN propune termenul de *arterioscleroză*, spre a defini o afectare neinflamatorie a arterelor, caracterizată prin îngroșarea, calcificarea și hialinizarea mediei. VOGEL (1845) sugerează împărțirea leziunilor arteriale în două grupe: cu și fără conținut lipidic, idee reluată de VIRCHOW (1856). În afara conținutului lipidic, se impune tot mai mult atenției cercetătorilor asocierea leziunilor cu o intimă îngroșată.

GULL și SUTTON (1872) susțin că îngroșarea intimei apare prin acumulări progresive de constituenți ai plasmei, ce se depun sub aspectul degenerescenței fibrinoide. Pentru RINDFLEISCH (1867), un elev a lui Virchow, îngroșarea intimei este rezultatul unui proces inflamator cronic, produs și întreținut de presiunea sanguină exercitată asupra peretelui arterial. În zonele unde peretele arterial este supus efectelor celor mai nocive ale stresurilor hemodinamice, îngroșarea intimei atinge gradul cel mai ridicat. Apar în plus și necroze prin deficit de irigație, constituind stadii incipiente de dezvoltare ale ateroamelor, a căror histogeneză pare a fi astfel dominată de factori hemodinamici. RINDFLEISCH aduce în sprijinul acestei ipoteze dovada macro- și microscopică a apariției leziunilor de aterom în anumite zone de elecție, cum ar fi bifurcațiile, punctele de emergență, curburile și zonele cu schimbări bruște ale geometriei vasului. THOMA (1883) insistă asupra asocierii îngroșării intimei cu alterări severe ale țesutului elastic din artere. Datorită acestor alterări, vasul ar suferi o dilatare anormală ce este compensată prin procesul de îngroșare intimală care favorizează apariția ateroamelor.

Originea lipidelor din leziunile arteriale este discutată pentru prima dată în lucrările lui VIRCHOW (1846—1856), fiind sugerate ca surse principale plasma sanguină ce traversează peretele arterial și procese degenerative locale. Iritații produse de factori hemodinamici, ar da naștere la reacții inflamatorii cronice, incluzînd leziuni degenerative și reparatoare, descrise sub denumirea de „endarteritis deformans". În prima fază ar domina imbibiția plasmei în zona subendotelială, rezultînd formarea striurilor lipidice; în a doua fază, ar deveni predominante procesele necrozante, favorizînd apariția ateroamelor. Conform observațiilor lui VIRCHOW (1856), „atherosis" precedă „sclerosis", deoarece procesele degenerative și necrozante apar înaintea fibrozării intimei. Scleroza, în concepția lui VIRCHOW, ar rezulta ca o reacție locală la procesele cu caracter degenerativ și necrotic și la prezența acumulărilor lipidice.

Lucrările lui VIRCHOW au avut o mare influență asupra evoluției ulterioare a concepțiilor și cercetărilor în domeniul patologiei vasculare, acumularea lipidică devenind subiectul principal al investigațiilor. Sub influența acestei noi orientări, FELIX MARCHAND propune, în 1904, la cel de-al 21-lea Congres internațional de medicină internă, folosirea termenului de *ateroscleroză*, spre a defini o boală caracterizată prin leziuni arteriale, cu bogat conținut lipidic. Această definiție a produs numeroase confuzii, ținînd seama mai ales de observația curentă că atît la om, cît și la animalele care fac atheroscle-

Scanned with OKEN Scanner

roză spontană, leziunea dominantă poate fi placa fibroasă lipsită de conținut lipidic. În cursul ultimelor decenii a devenit tot mai evident faptul că nu conținutul lipidic este particularitatea dominantă a leziunilor de ateroscleroză, ci *aspectul lor de placă. Deosebirea esențială dintre ateroscleroză și arterioscleroză rezidă în faptul că prima are ca principal substrat lezional placa, cu localizare electivă în intima arterelor mari și mijlocii, iar a doua hialinizarea mediei arterelor mici și arteriolelor.* Cu toate aceste diferențe fundamentale, mulți cercetători continuă să folosească și astăzi termenul de arteriosclerozăcînd se referă la plăci aterosclerotice. Se mai susține în plus că ateroscleroza ar trebui considerată o formă particulară a arteriosclerozei ce afectează arterele mari și mijlocii. Și mai discutabilă este tendința de a folosi termenul de ateroscleroză ca echivalent cu cel de patologie vasculară cronică, incluzîndu-se în acest termen modificări cu caracter adaptativ sau/și lezional ce apar în arterele de toate diametrele, arteriole și capilare.

În 1956, un grup de experți ai Organizației Mondiale a Sănătății (OMS) au elaborat o definiție a aterosclerozei, reflectînd progresele realizate în etiopatogenia bolii în prima jumătate a acestui secol. Conform acestei definiții „ateroscleroza reprezintă un complex de modificări ale intimei arterelor (deosebite de cele ale arteriolelor), constînd din acumulări focale de lipide, complexe glucido-protidice, componenți plasmatici, țesut de fibroză și depuneri de calciu, asociate cu modificări ale mediei" (WHO 1958). Definiția are numeroase imperfecțiuni ce pot constitui surse de confuzii, fiind contestată de numeroși cercetători care au preferat să formuleze definiții proprii. Grupul de experți OMS a elaborat și o clasificare a leziunilor, descriind 3 stadii de dezvoltare: striul lipidic, placa fibroasă și leziunea complicată (ulcerată, trombozată, calcificată). Această clasificare a generat, de asemenea, multe controverse, izvorîte din lipsa unor dovezi concludente din care să rezulte rolul striurilor lipidice ca precursori ai plăcilor fibroase. De altfel chiar grupul de experți menționat a revenit asupra acestei prime clasificări, prezentînd în 1974 ca stadiu inițial al leziunilor aterosclerotice, hiperplazia fibromusculară a intimei (McGILL 1974).

2. FORMULAREA PRIMELOR TEORII PRIVIND ETIOPATOGENIA BOLII

Aceste teorii vor fi prezentate în ordinea cronologică a publicării lor în literatura de specialitate.

a. TEORIA HEMODINAMICĂ

La mijlocul veacului trecut, medicul și fizicianul POISEUILLE (1846), a imaginat o metodă privind modul de investigare *in vitro* a particularităților hemodinamice ale aparatului cardio-vascular, folosind tuburi de oțel cu diametre și grosimi variabile în care introducea lichide sub presiune. Cu ajutorul acestor modele a reușit să stabilească legi și formule care își păstrează încă și astăzi valabilitatea. Cea mai larg folosită este „ecuația lui Poiseuille", ce corelează rata de scurgere, gradientul de presiune, raza, lungimea vasului și viscozitatea lichidului. Rezultatele publicate de Poiseuille au sugerat și investigarea rolului stresurilor hemodinamice în apariția ateroamelor, primele ipoteze asupra acestui subiect fiind enunțate de CRUVEILLHIER în perioada 1849—

Scanned with OKEN Scanner

1862. VIRCHOW (1856) susţine, de asemenea, rolul factorului hemodinamic în aterogeneză, ca şi RINDFLEISCH (1867), THOMA (1883) şi JORES (1898). Interesul pentru acest rol devine însă mult mai mare odată cu demonstrarea de către TURNBULL (1915) a asocierii hipertensiunii din mica circulaţie cu ateroscleroza arterei pulmonare. Întrucît s-a putut demonstra că hipertensiunea precedă dezvoltarea leziunilor, s-a sugerat existenţa unei relaţii cauză-efect.

Această relaţie cauză-efect a mai fost susţinută de: *a*) analiza unor cazuri de malformaţii cardiace care se însoţeau de hipertensiune în mica circulaţie şi prezentau plăci aterosclerotice pe artera pulmonară; *b*) rezultatele anumitor experimente pe cîini, la care presiunea din mica circulaţie a fost ridicată pînă la nivelul celei sistemice, rezultînd apariţia plăcilor aterosclerotice pe artera pulmonară.

În cursul ultimului deceniu, rolul aterogen al stresurilor hemodinamice a redevenit un subiect principal al investigaţiilor privind etiopatogenia aterosclerozei, aşa cum demonstrează datele prezentate în capitolul II. Un anumit patern de stres hemodinamic apare ca singurul factor indispensabil dezvoltării plăcilor aterosclerotice, fiind capabil să inducă formarea acestor plăci: în intima arterelor mari şi mijlocii; în valvulele mitrale; în intimele îngroşate ale grefelor de venă safenă implantate în circulaţia coronariană; în intimele îngroşate ale venelor din fistule arterio-venoase şi şunturi arterio-venoase; în „neointima" tubilor de material plastic grefaţi în circulaţia arterială.

Ţinută în umbră timp de aproape un secol datorită limitelor metodologice ce nu permiteau studiul corelaţiei stres hemodinamic-ateroscleroză, această teorie revine pe primul plan al actualităţii.

b. TEORIA TROMBOGENĂ

Fundamentată de ROKITANSKY (1852) la mijlocul veacului trecut, susţine că ateromul este rezultatul depunerilor de fibrină în intimile îngroşate ale arterelor. Implicaţiile în patologie au fost rapid întrevăzute de MALMSTEN (1859) care a sugerat rolul trombozelor intramurale în obstruările coronarelor ce produc degenerescenţa şi ruptura miocardului. Observaţii anatomo-patologice şi corelaţii anatomo-clinice au confirmat acest punct de vedere, evidenţiindu-se prezenţa trombozelor mai ales pe ateroamele ulcerate (WEIGERT 1880; ZIEGLER 1882). Interesul acordat teoriei trombogene a crescut considerabil după ce HERRICK (1912) a demonstrat posibilitatea diagnosticării în cursul vieţii a obstrucţiilor arterei coronare, iar PARDEE (1923) a reuşit, cu ajutorul electrocardiografiei, să localizeze zona de obstrucţie.

O altă direcţie a investigaţiilor, cu implicaţii în teoria trombogenă, s-a dezvoltat paralel cu progresele înregistrate în studiul trombocitelor. Cu mai mult de un secol în urmă s-a demonstrat că ele participă la formarea trombusului, suferind o transformare cu aspect particular denumită „metamorfoză vîscoasă" (WHARTON 1851; ZAHN 1875; BIZZOZERO 1882; HAYEM 1882; EBERTH şi SCHIMMELBUSCH 1886). Implicarea trombocitelor în aterogeneză a devenit în ultimii ani tot mai complexă, pe măsură ce progresele metodologice au permis evidenţierea a numeroase substanţe cu acţiune aterogenă elaborate de aceste celule, substanţe care vor fi prezentate într-un subcapitol special al capitolului IV. În sfîrşit, o altă direcţie de investigaţie legată

Scanned with OKEN Scanner

de teoria trombogenă a inclus studiul macromoleculei de fibrinogen, a conversiunii fibrinogen-fibrină, precum şi a enzimelor şi substanţelor cu acţiuni fibrinolitice şi tromboplastice. Şi aceste subiecte sînt prezentate pe larg în capitolul IV.

Teoria trombogenă a fost reactualizată de către DUGUID (1946, 1948), cu aproximativ trei decenii în urmă. Lucrările sale susţin că pe suprafaţa arterelor se formează microtrombi ce sînt progresiv încorporaţi în intimă şi organizaţi conjunctiv, rezultînd formarea plăcilor aterosclerotice. Lipidele din aceste plăci ar fi furnizate de hematiile şi trombocitele incluse în reţelele de fibrină ale microtrombilor.

Deşi preluată de numeroase colective de cercetători, mai ales în Anglia şi recent şi în Statele Unite, teoria trombogenă reactualizată este acceptată cu multă rezervă, datorită rarităţii cu care se întîlnesc, la examenul microscopic, aspecte de încorporare a microtrombilor în intimă. Pe de altă parte însă, rolul trombozelor în apariţia leziunilor complicate cu caracter obstructiv este larg acceptat, teoria trombogenă a aterosclerozei oferind sub acest aspect datele adecvate înţelegerii modului cum se face trecerea de la stadiul subclinic la cel al manifestărilor clinice ale cardiopatiei ischemice şi accidentelor vasculare cerebrale.

c. TEORIA FILTRĂRII LIPIDELOR

Folosind metode gravimetrice, WHITE (1909) şi WINDAUS (1910), evidenţiază, în ateroame, prezenţa unei cantităţi de colesterol de 6—10 ori mai mare decît în zonele fără leziuni aterosclerotice, creşterea cea mai marcată fiind cea a colesterolului esterificat. În aceeaşi perioadă de timp, SALTIKOV (1910) atrage atenţia asupra frecvenţei ateromului la subiecţi ce se hrănesc cu cantităţi mari de lipide. ANICIKOV şi ŞALATOV (1913) publică prima lucrare, în care se demonstrează apariţia unor leziuni arteriale similare celor din ateroscleroza umană la iepurii hrăniţi cu diete bogate în colesterol. Pe baza acestui model experimental se clădeşte teoria filtrării lipidelor, ce susţine că ateroscleroza ar rezulta dintr-un aport exagerat de colesterol alimentar. Odată cu apariţia modelului experimental menţionat şi elaborarea teoriei filtrării lipidelor, foarte mulţi cercetători şi clinicieni au considerat problema etiopatogeniei aterosclerozei ca rezolvată. După mai bine de 60 de ani de investigaţii intense şi de acumulare a unui imens material faptic, relaţia cauzală dintre colesterol şi ateroscleroză rămîne în continuare un subiect controversat.

În sprijinul teoriei filtrării lipidelor au pledat şi primele observaţii de laborator asupra variaţiilor valorilor colesterolemiei. La începutul acestui secol, medicul olandez C.D. de LANGEN, după mai mulţi ani de practică în Java, menţiona că la populaţia locală nivelul colesterolemiei era mult mai coborît decît la olandezii stabiliţi în Java. Valorile ridicate ale colesterolemiei la aceştia din urmă au fost corelate cu incidenţa mai mare a bolilor de inimă, flebotrombozei şi litiazei biliare (DE LANGEN 1916). Este prima lucrare ce implica alimentaţia în etiopatogenia aterosclerozei şi tot prima lucrare în care dieta japonezilor era recomandată pentru a preveni apariţia bolilor induse de colesterolul în exces. Un deceniu mai tîrziu apar şi alte lucrări în care lipidele din alimentaţie sînt implicate în aterogeneză: astfel, KUCZYNSKI (1925) menţionează că în stepele din Asia centrală, unde se consumau foarte multe grăsimi saturate, exista o incidenţă crescută a bolilor de inimă, iar SNAPPER

Scanned with OKEN Scanner

(1941) subliniază raritatea acestor boli în China, asociind-o cu alimentația săracă în grăsimi și cu absența tabagismului. KIMURA (1956), efectuînd 10 000 autopsii în zona de sud a Japoniei, evidențiază incidența redusă a leziunilor de ateroscleroză, în comparație cu subiecții de vîrstă similară din Statele Unite, atribuind aceste diferențe aportului masiv de grăsimi saturate din alimentația americanilor. Aceste lucrări au deschis drumul studiilor de epidemiologie și de patologie geografică a aterosclerozei care au dominat cercetarea științifică în acest domeniu în cursul ultimelor două decenii. Ele au demonstrat: asocierea unei incidențe crescute a cardiopatiei ischemice cu diete bogate în grăsimi saturate și în colesterol; asocierea cardiopatiei ischemice cu boli genetice de tipul hiperlipoproteinemiilor și cu anumite condiții patologice (hipotiroidism, nefroze, afecțiuni obstructive ale căilor biliare) ce induc valori ridicate ale colesterolemiei sau/și trigliceridemiei. În afara studiilor de epidemiologie, teoria filtrării lipidelor a mai stimulat cercetări analitice de mare valoare privind metabolismul lipoproteinelor precum și interesul pentru o alimentație rațională, pentru combaterea obezității și a sedentarismului.

3. TEORII, IPOTEZE ȘI DESCOPERIRI RECENTE

În ultimii ani, datorită caracterului multidisciplinar al investigațiilor în domeniul aterosclerozei, s-au înmulțit considerabil teoriile și ipotezele privind etiopatogenia bolii. Astfel, numai în cursul perioadei 1973—1978, sînt de luat în considerație:

— teoria originei monoclonale a plăcilor aterosclerotice, care mută centrul de greutate al mecanismelor etiopatogenice de la hiperplazie la neoplazie (BENDITT 1976, 1977);

— teoria privind rolul deficitului de esteraze acide lizozomale în acumularea esterilor de colesterol în intimele îngroșate (WOLMAN 1974; WOLINSKY 1976 a, b);

— teoria privind rolul hipostabilizării structurale a macromoleculelor constitutive ale substanței fundamentale și fibrelor intimei arteriale, în apariția leziunilor de ateroscleroză în anumite zone de electie (VELICAN 1974);

— teoria contracției celulelor endoteliale, ca mecanism „cheie" al aterogenezei, substanțele ce produc dilatarea spațiilor intercelulare favorizînd pătrunderea componentelor plasmatice în peretele arterial (SHIMAMOTO 1974, 1975 c);

— teoria susținînd rolul aterogen al produșilor de degradare ai chilomicronilor, ce rămîn necaptați de către ficat, cresc în concentrație în sîngele circulant, pătrund în grosimea intimei și dau naștere acumulărilor lipidice (ZILVERSMIT 1975);

— teoria sugerînd că acumulările de colesterol din leziunile de ateroscleroză fac parte dintr-un mecanism protector și nu sînt implicate în etiopatogenia bolii (KAUNITZ 1978).

Mai menționăm ca importante pentru o mai bună înțelegere a etiopatogeniei aterosclerozei, rezultatele unor lucrări privind:

— identificarea caracterului aterogen al stresului de dragare (FRY 1973, 1976);

— demonstrarea unui factor elaborat de trombocite care stimulează proliferarea nodulară a celulelor musculare netede din artere (ROSS și colab. 1974);

Scanned with OKEN Scanner

— diferenţierea unui patern al lipoproteinelor ce conferă rezistenţă la ateroscleroză, caracterizat prin valori reduse ale colesterolului din β-lipoproteine şi valori crescute ale colesterolului din α-lipoproteine;

— evidenţierea unei corelaţii inverse, dar constant întîlnite între valorile colesterolului din α-lipoproteine şi incidenţa cardiopatiei ischemice;

— încercările de delimitare a unei forme pediatrice a aterosclerozei;

— identificarea unei forme „accelerate" de ateroscleroză ce poate apărea în grefele de venă safenă implantate în circulaţia coronariană pentru revascularizarea chirurgicală a miocardului;

— demonstrarea unor particularităţi metabolice ale peretelui arterial al animalelor rezistente la ateroscleroza spontantă şi / sau experimentală, în comparaţie cu animalele susceptibile la apariţia leziunilor;

— producerea de leziuni de ateroscleroză experimentală prin diete semisintetice, lipsite de colesterol, dar bogate în proteine de origine animală;

— conturarea efectelor aterogene sau antiaterogene ale microelementelor şi ale variaţiilor raporturilor lor în apă şi alimente;

— demonstrarea rolului jucat de factorii genetici în etiopatogenia aterosclerozei.

Sub aspectul orientărilor şi ideilor noi în domeniul patogeniei, ultimii 5 ani se înscriu ca una dintre cele mai „revoluţionare" perioade din istoria dezvoltării cunoştinţelor asupra aterosclerozei.

B. CONCEPTUL ACTUAL DE ATEROSCLEROZĂ

1. ORIGINEA MULTIFACTORIALĂ A BOLII

După cum am mai menţionat şi în prefaţă, prezentăm ateroscleroza ca o *boală multifactorială, ce afectează în mod specific arterele mari şi mijlocii prin apariţia unor leziuni particulare cunoscute sub denumirea de plăci.* Conform acestei concepţii, mai mulţi agenţi ce se potenţează şi se interferează, acţionînd simultan sau în secvenţă, sînt necesari pentru apariţia şi evoluţia leziunilor. Teoria multifactorială a aterosclerozei s-a impus an de an şi în literatura noastră medicală (PĂUNESCU-PODEANU şi colab. 1967; DIMITRIU 1971; NICOLAESCU şi CERCHEZ 1971; DEGERATU şi colab. 1974; MOGA şi colab. 1974; BALTĂ şi colab. 1977; MINCU 1977). Acceptarea ei reprezintă un progres faţă de anumite dogme ce au dominat în trecutul nu prea depărtat, dar este necesar a sublinia că nici teoria multifactorială a aterosclerozei nu oferă explicaţii satisfăcătoare privind mecanismul apariţiei leziunilor şi particularităţile lor evolutive. Ea ar putea fi considerată un „armistiţiu" între diferitele teorii existente, în aşteptarea unor noi descoperiri care să ducă la identificarea agenţilor etiologici.

Într-un studiu efectuat în Institutul de Medicină Internă al Spitalului Clinic Colentina pe un lot de peste 300 copii, am demonstrat prezenţa plăcilor fibroase la 2% dintre subiecţii între 6—10 ani şi la 4% între 11—15 ani (VELICAN D. şi VELICAN 1978 b, 1979). Pare probabil că factorii etiologici ai aterosclerozei încep să acţioneze după vîrsta de 5 ani, inducînd forma-

Scanned with OKEN Scanner

rea primelor plăci fibroase. Acțiunea acestor factori se intensifică cu înaintarea în vîrstă, incidența plăcilor crescînd la 12% la adolescenți și la 28% la adulții tineri între 21—25 ani.* În timp ce la copii plăcile aterosclerotice au un caracter fibros, la adolescent predomină aspectul mucoid, iar la adultul tînăr încărcarea lipidică și necroza. Observații macroscopice efectuate pe arterele coronare ale soldaților americani morți în luptele din Coreea și Vietnam au permis să se evidențieze leziuni de ateroscleroză la 32—44% dintre tineri, media vîrstei grupului investigat fiind de 22 ani (ENOS și colab. 1953; McNAMARA și colab. 1971). Începînd din al patrulea deceniu al vieții prezența plăcilor aterosclerotice în arterele coronare este cvasiconstant întîlnită, așa cum demonstrează un studiu recent efectuat sub egida OMS pe 17 284 adulți și vîrstnici din Suedia, R. S. Cehoslovacă și U.R.S.S. (KAGAN 1977). În concluziile acestui studiu se menționează absența afectării aterosclerotice a coronarelor la numai 3 subiecți, respectiv la 1 din peste 6 000!

Plăcile aterosclerotice prezintă o dezvoltare mai rapidă în arterele coronare și aorta abdominală începînd din al treilea deceniu al vieții, în arterele carotidă, vertebrală și bazilară începînd din al patrulea deceniu, în arterele renală și femurală începînd din al cincelea deceniu. Această apariție în etape sugerează, în plus, persistența factorilor etiologici în tot cursul vieții, cu posibilități de acțiune asupra tuturor teritoriilor arteriale.

Plăcile aterosclerotice apar nu numai în intimele îngroșate ale arterelor mari și mijlocii, ci și în intima îngroșată a valvulelor mitralei. Nu au fost însă niciodată observate în valvulele tricuspide, atîta timp cît presiunea din artera pulmonară a rămas de aproximativ șase ori mai coborîtă decît cea din aortă. Plăcile aterosclerotice au fost frecvent detectate în intimele îngroșate ale fragmentelor de venă safenă implantate în circulația coronariană pentru revascularizarea chirurgicală a miocardului, dar nu se dezvoltă și în intima venelor safene lăsate în patul lor natural. S-au mai semnalat plăci aterosclerotice în intima îngroșată a venelor din fistule și șunturi arterio-venoase, apariția lor putînd fi corelată cu creșterea presiunii intraluminale de la valorile celei din vene la valorile celei din artere. În sfîrșit, s-au descris plăci aterosclerotice în „neointima" ce se formează în tuburi de material plastic grefate în aortă, carotidă, femurală sau alte artere mari și mijlocii, după excizarea unor zone stenozate sau după traumatisme severe. În toate exemplele menționate factorii genetici nu pot fi implicați în apariția leziunilor, ci numai un anumit patern de stres hemodinamic. La om, aorta, arterele coronare și cerebrale reprezintă zonele de elecție pentru dezvoltarea plăcilor aterosclerotice. Datele furnizate de patologia comparată demonstrează că la mamifere și păsări afectarea aterosclerotică a aortei este foarte frecventă, în timp ce afectarea arterelor coronare și cerebrale constituie o raritate, proporția nedepășind 2% din animalele adulte investigate. Nu cunoaștem încă mecanismele intime de transmitere genetică la om a susceptibilității particulare la ateroscleroză a arterelor coronare și cerebrale.

Tot în legătură cu investigarea factorilor etiologici posibili ai aterosclerozei umane, menționăm și eforturile care se fac pentru descoperirea unor virusuri ce ar putea induce apariția plăcilor (BURCH 1972; BENDITT 1976). Nu insistăm mai mult asupra acestui subiect, întrucît în literatura de specia-

---

* D. VELICAN și C. VELICAN, Atherosclerosis 1980, *36*, 449.

litate nu există încă dovezi concludente asupra originii virotice a plăcilor aterosclerotice.

Mecanismele patogenice ale aterosclerozei umane sînt extrem de numeroase şi de complexe, cele mai multe dintre ele fiind lipsite de specificitate. Astfel, tulburările metabolismului lipidic, analizate în nenumărate tomuri, sînt particulare hiperlipoproteinemiilor, iar procesele de tromboză, de asemenea, analizate în numeroase volume, apar comune unui mare număr de maladii. Sînt proprii aterosclerozei doar mecanismele patogenice prin intermediul cărora acţionează stresurile hemodinamice din arterele mari şi mijlocii. Modificările induse de aceste stresuri şi în primul rînd eroziunile endoteliului, par să reprezinte placa turnantă prin intermediul căreia se produc: agregarea şi degranularea trombocitelor, acumulări masive de lipoproteine şi fibrinogen în intimă; pătrunderea, în intimă, a unor factori ce stimulează proliferarea celulelor musculare şi, în final, formarea plăcilor fibroase.

Numărul mare de mecanisme patogenice implicate în aterogeneză impune ca şi intervenţia medicului să fie corelată cu caracterul multifactorial al bolii, să nu se limiteze la administrarea unui singur medicament, sau la eliminarea unui singur factor de risc. Este însă destul de greu de selecţionat, în fiecare etapă a evoluţiei bolii, factorii aterogeni principali de cei secundari, de a hotărî care dintre ei urmează a fi interceptaţi mai întîi şi pentru ce interval de timp. Din observaţiile efectuate timp de peste 25 de ani în studiul longitudinal de la Framingham, Statele Unite, a rezultat că aproximativ 50% dintre cazurile care au făcut infarct de miocard în cursul investigaţiei, erau incluşi în categoria celor „sănătoşi" (KULLER 1976; KANNEL 1977, 1978). Ei nu au prezentat, în perioada ce a precedat accidentul coronarian, nici un tip de modificări patologice decelabile prin examene paraclinice.

2. ATEROSCLEROZA, BOALĂ A PERETELUI ARTERIAL

Timp de mai multe decenii a dominat şi în parte mai domină încă, orientarea ce prezintă ateroscleroza ca o boală caracterizată prin modificări ale biochimiei sîngelui, în primul rînd ale metabolismului lipidic. Descrisă frecvent ca o hiperlipoproteinemie, cu particularităţile metabolice ale hipercolesterolemiei familiale, ateroscleroza este prezentată ca o afecţiune fără substrat lezional specific, exceptînd tezaurizarea în peretele arterial al lipidelor aflate în exces în plasmă. Această orientare, influenţată de modele experimentale de valoare discutabilă, nu ia în considerare ceea ce apare evident de sute de ani la examenul *post mortem* al oricărui adult sau vîrstnic: existenţa unor leziuni specifice cu aspectul de placă.

Placa este tot atît de caracteristică aterosclerozei umane pe cît este foliculul cu celule Langhans pentru tuberculoză şi granulomul cu celule Sternberg-Reed pentru boala Hodgkin. Placa nu a mai fost descrisă în alte afecţiuni în afară de ateroscleroză, după cum în afara ei nu se cunosc alte leziuni specifice bolii umane. Includerea în tabloul anatomo-patologic al aterosclerozei a striurilor lipidice, edemului intimal, plăcilor gelatinoase, microtrombilor încorporaţi în intimă, precum şi îngroşărilor intimale şi alterărilor ţesutului elastic reprezintă subiectul a multe controverse. Rămînînd în sfera comparaţiilor menţionate, se poate afirma că în tuberculoză şi în boala Hodgkin, pe lîngă leziuni specifice, apar numeroase procese patologice cu caracter nespecific.

Scanned with OKEN Scanner

Prin analogie, şi în ateroscleroză, în afară de placă, mai există numeroase modificări tisulare cu caracter nespecific, cele mai importante părînd a fi îngroşările intimale.

Asocierea pe intervale lungi de timp a factorilor de risc cu ateroscleroza, poate modifica profund tabloul anatomo-patologic al acestei boli, grăbind istoria naturală a leziunilor şi mărind considerabil gradul lor de severitate.

În afara agravării evoluţiei plăcilor şi a caracterului lor obstructiv, factorii de risc produc ei înşişi leziuni ce se intrică cu cele ale aterosclerozei. În hipertensiunea arterială apar îngroşări difuze, scleroze şi hialinizări ale mediei arterelor de toate diametrele; la nivelul arterelor mici şi arteriolelor se formează şi îngroşări intimale, iar ţesutul elastic suferă procese degradative. Hipertensiunea arterială mai induce plăci gelatinoase în intimile îngroşate, precum şi focare de necroză intimală. Tabagismul induce o îngroşare difuză a intimei arterelor mici şi arteriolelor, cu apariţia frecventă a unor tromboze cu caracter obstructiv. Asocierea acestor procese patologice cu leziunile de ateroscleroză creează un tablou anatomopatologic mai complex, dominat de extinderea alterărilor tisulare de la arterele mari şi mijlocii spre arterele mici şi arteriole.

Nu cunoaştem încă în mod satisfăcător tipul şi particularităţile proceselor cu caracter patologic ce precedă apariţia plăcilor ateroşclerotice. Observaţiile efectuate pe lotul de peste 300 copii studiat de noi sugerează că această apariţie a rezultat la grupul de vîrstă 6—15 ani, dintr-o conversiune a perniţelor intimale situate în zona de emergenţă a arterei descendente anterioare, arterei circumflexe, primei artere diagonale şi primei artere septale. Procesul de conversiune a inclus instalarea unui edem intimal, urmat de degradarea fibrelor elastice şi de colagen, depleţia substanţei fundamentale şi discrete alterări celulare. Arhitectura heterogenă a perniţei intimale devine astfel omogenă, acest caracter apărînd şi mai net odată cu proliferarea masivă, cu caracter nodular, a anumitor celule musculare netede, ce produc mari cantităţi de fibre de colagen. În plus, dau naştere unei substanţe fundamentale cu un *patern* particular al mucopolizaharidelor acide, dominat de prezenţa abundentă a condroitin sulfaţilor (VELICAN C. şi VELICAN 1979 a, b; VELICAN D. şi VELICAN 1979). Observaţia microscopică a aceluiaşi material a demonstrat că striurile lipidice apar în coronarele de copii la 5—8 ani după primele plăci fibroase. În grefele de venă safenă implantate în circulaţia coronariană, plăcile fibroase sînt precedate de simple îngroşări intimale şi în anumite condiţii particulare de microtrombi încrustaţi în intimă. În fistulele şi şunturile arterio-venoase, plăcile ce apar în intima îngroşată a venelor au ca precursor doar proliferarea nodulară a ţesutului conjunctiv intimal. În tuburile de material plastic grefate în circulaţia arterială, ia naştere mai întîi o „pseudo-intimă" în care există numeroşi trombi cu caracter intraparietal ce par a contribui la formarea plăcilor. Patologia comparată oferă numeroase exemple de plăci fibroase apărute la maimuţe, porci, cîini, pisici, oi, elefanţi etc., neprecedate de striuri lipidice sau de alte tipuri de leziuni, fiind constant prezente doar îngroşarea intimei şi alterările limitantei elastice. În variate modele experimentale s-au putut produce plăci fibroase, neprecedate de striuri lipidice ci doar de îngroşări intimale focale; metodele cele mai des folosite au inclus stresuri hemodinamice particulare, agresiuni mecanice sau toxice asupra endoteliului, iradiaţii cu raze X, administrare de estrogeni sau de aminoacizi sulfuraţi etc.

Scanned with OKEN Scanner

După cum am mai menționat, *prezența plăcilor este particulară teritoriului vascular afectat de ateroscleroză și anume arterele mari și mijlocii, pînă la diametrul de aproximativ 1 mm.* Nu sînt însă lezate toate arterele mari și mijlocii și nici toate segmentele arterelor susceptibile la ateroscleroză. Arterele cubitală, radială și mamară internă, de exemplu, rămîn frecvent fără plăci pînă la vîrste foarte înaintate, indiferent de valorile tensiunii arteriale, colesterolemiei și de intensitatea tabagismului. În arterele coronare, leziunile cele mai întinse și mai severe apar în ordine descrescîndă în descendenta anterioară, circumflexă și coronara dreaptă. În fiecare dintre aceste trei artere, primii 2 cm începînd de la emergență sînt cei mai intens lezați. Artera carotidă internă este mai sever afectată decît artera carotidă externă, artera iliacă internă decît artera iliacă externă, artera baziliară decît artera cerebrală anterioară, artera tibială decît artera peronieră. În artera carotidă internă, segmentul proximal este mai precoce și mai sever afectat decît cel intermediar, în artera bazilară jumătatea proximală decît cea distală, în artera tibială segmentele neînconjurate de masă musculară decît cele ce trec printr-un tunel de țesut muscular.

Explicarea acestor susceptibilități diferite pune pe primul plan rolul stresurilor hemodinamice. Afectarea mai intensă a arterelor coronare în comparație cu arterele altor organe poate fi corelată cu întreruperea ritmică a circulației intramiocardice în cursul fiecărei sistole. Masa musculară care se contractă, mai ales a ventriculului sting, colabează lumenul vaselor mici intramiocardice, întrerupînd fluxul sanguin. O parte din cantitatea de sînge prezentă în aceste vase este împinsă spre rețeaua capilară a miocardului, iar o altă parte, ce nu poate fi primită de această rețea capilară, formează o undă retrogradă ce pleacă din ramurile mici intramiocardice, spre ramurile mari epicardice, intrînd în coliziune cu sîngele venit din aortă. Această rezistență periferică ce ia naștere brusc la începutul fiecărei sistole, constituie un stres hemodinamic adițional de o extremă importanță pentru explicarea apariției rapide a îngroșărilor intimale difuze și a plăcilor aterosclerotice, mai ales în artera descendentă anterioară și artera circumflexă. Susceptibilitatea particulară a aortei abdominale la apariția plăcilor aterosclerotice, în comparație cu segmentul toracic al aortei, s-ar datora, cel puțin în parte, existenței unor unde retrograde asociate cu turbulențe, ce se formează la nivelul bifurcației iliacelor.

În artera carotidă internă, segmentul proximal este mai sever afectat decît cel intermediar deoarece acesta din urmă trece printr-un tunel osos și nu mai este destins ritmic de unda pulsatilă. Artera cerebrala anterioară este, de asemenea. mai bine protejată de distensia sistolică de către țesutul cerebral din jur, în comparație cu artera bazilară, iar artera peronieră, de către țesutul muscular din jur, în comparație cu artera tibială. Segmentele de artere învelite în fești de material plastic spre a se reduce intensitatea distensiei ritmice determinată de trecerea undei pulsatile, devin mai rezistente la apariția leziunilor de ateroscleroză în comparație cu segmentele lăsate în patul lor natural.

3. FACTORII DE RISC AI ATEROSCLEROZEI

a. DATE CU CARACTER GENERAL

Sub denumirea de „factori de risc" se definesc *condiții asociate cu o incidență crescută a manifestărilor clinice ale aterosclerozei.*

Este meritul incontestabil al cercetărilor de epidemiologie de a fi contribuit la o mai bună înțelegere a patogeniei aterosclerozei prin informațiile furnizate privind frecvența și distribuția manifestărilor clinice ale aterosclerozei în raport cu tipul și numărul factorilor de risc. Aceste informații se referă la continente diferite, la țări diferite, la grupe diferite de populații locuind în același teritoriu geografic, la grupe de populații migratoare și stabile, la grupe

Scanned with OKEN Scanner

de vîrstă diferită aparţinînd aceleiaşi populaţii, precum şi la populaţii de sexe şi rase deosebite. Într-o primă fază cercetările de epidemiologie au avut un caracter descriptiv, evidenţiind diferenţe geografice de mortalitate prin cardiopatie ischemică şi accidente vasculare cerebrale. Într-o a doua fază, aceste studii au devenit mai dinamice, incluzînd cercetări prospective cu caracter longitudinal, de tipul celor efectuate la Framingham în Statele Unite iar la noi în ţară la Institutul de Medicină Internă al Spitalului Clinic Colentina şi în mai multe centre universitare. Mai recent a început cea de a treia fază în care se urmăresc efectele eliminării acţiunii factorilor de risc, sperîndu-se să se obţină astfel o anumită reducere a incidenţei manifestărilor clinice ale aterosclerozei şi mai ales a mortalităţii prin accidente vasculare coronariene şi cerebrale. Rezultatele studiilor de epidemiologie au în primul rînd o valoare statistică; ele au şi o valoare predictivă pentru grupe mari de populaţii, fiind mai puţin utile pentru prognosticul bolii în cazuri individuale.

În numeroase cercetări de epidemiologie, vîrsta, sexul, rasa, hipertensiunea arterială, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, dietele (bogate în grăsimi saturate, proteine animale şi glucide rafinate, cu o duritate scăzută a apei şi cu un patern special de mineralizare), precum şi tabagismul, stresul psihic, diabetul, obezitatea, sedentarismul, menopauza, iar recent valorile scăzute ale colesterolului din α-lipoproteine, au apărut asociate cu o incidenţă crescută a cardiopatiei ischemice. S-au descris pînă acum peste 40 de factori de risc ce pot fi clasificaţi după gradul lor de nocivitate, mod de acţiune, tipul asocierii cu alţi factori de risc, secvenţialitatea intervenţiei lor în istoria naturală a aterosclerozei etc. (STRASSER 1972; MINCU 1977).

După cum am mai menţionat, factorii de risc nu sînt şi nu trebuie consideraţi agenţi etiologici ai aterosclerozei deoarece leziunile pot apare şi evolua în absenţa acestor factori. Se evidenţiază plăci aterosclerotice şi infarcte de miocard atît la valorile cele mai coborîte cît şi cele mai crescute ale tensiunii arteriale, colesterolemiei sau trigliceridemiei, precum şi în absenţa sau prezenţa fumatului. Din rezultatele a numeroase studii cu caracter longitudinal, se poate trage concluzia că aproximativ 1/3 dintre adulţii ce prezintă manifestări clinice ale aterosclerozei nu erau sub acţiunea factorilor de risc cunoscuţi pînă acum. Patologia comparată demonstrează apariţia plăcilor aterosclerotice la animale vegetariene, cu valori ale colesterolemiei sub 100 mg/100 ml., precum şi la balene, foci, morse sau pinguini care se hrănesc cu lipide bogate în acizi graşi nesaturaţi. Nici patologia umană, nici patologia comparată, nu oferă exemple demonstrative din care să rezulte un rol important al factorilor de risc în etiologia aterosclerozei.

Principala implicare certă a factorilor de risc este în patogenia aterosclerozei. După ce leziunile au apărut aceşti factori grăbesc evoluţia lor spre forme complicate cu caracter obstructiv, măresc diametrul leziunilor preexistente şi tendinţa la ulceraţie. Prin implicarea factorilor de risc în mecanismele patogenice ce dau leziunilor un caracter evolutiv mai sever se poate explica incidenţa infarctelor de miocard de aproximativ trei ori mai mare la subiecţii supuşi acţiunii acestor factori comparativ cu cei de aceiaşi vîrstă şi sex dar în afara respectivelor acţiuni nocive. Un studiu anatomo-clinic efectuat la adulţi menţionează o afectare maximă a suprafeţei arterelor coronare de 32% în absenţa factorilor de risc şi de 63% în prezenţa acestor factori (STRONG 1977). Tot din studii anatomo-clinice a rezultat o incidenţă mai scăzută a plăcilor aterosclerotice la populaţii ce consumă diete bogate în proteine vege-

Scanned with OKEN Scanner

tale și amidon comparativ cu cele ce consumă diete bogate în proteine animale și glucide rafinate (MOORE și col. 1976, 1977). Pe de altă parte, un studiu comparativ între grupe de subiecți cu variații pînă la 100% a incidenței plăcilor aterosclerotice în arterele coronare a demonstrat că numai 20% din această variație poate fi explicată prin prezența factorilor de risc, restul de 80% rămînînd neexplicată pe baza corelațiilor anatomo-clinice (SOLBERG și col. 1977).

În lumina datelor acumulate în literatură s-ar putea susține că acțiunea nocivă a factorilor de risc este responsabilă de o anumită rată de creștere a incidenței manifestărilor clinice ale aterosclerozei și în primul rînd a infarctului de miocard. Pe de altă parte însă nu putem explica, implicînd numai factorii de risc, epidemia de infarcte de miocard apărută după cel de al doilea război mondial (McGILL 1968; SCRISMAN și GUZMAN 1968; PAGE 1968; STRONG și col. 1972; BLACKBURN 1974; KANNEL 1974; CORDAY și CORDAY 1975; KLIMOV 1976; KULLER 1976; STRONG și RICHARD 1976; WHEREAT 1976; BAUMGARTNER 1977; STEHBENS 1977; KRITCHEVSKY 1978 a; STRONG și col. 1978).

Putem atribui tuturor condițiilor care se asociază cu o creștere a incidenței cardiopatiei ischemice și în special a infarctului de miocard, denumirea de „factor de risc"? Putem accepta o creștere la nesfîrșit a numărului acestor factori care au depășit pînă acum cifra de 40? S-ar putea atribui *denumirea de factor de risc numai celor implicați în mod direct în patogenia aterosclerozei*, restul avînd doar valoarea unor „indicatori" ai riscului. Aceștia din urmă avertizează asupra pericolului mai mare de apariție a infarctului de miocard, dar nu participă în mod efectiv la declanșarea accidentului acut vascular. În acest sens ar putea fi date ca exemplu grupa sanguină sau chiar anumite modificări ale traseului electrocardiogramelor reflectînd alterări miocardice ce coexistă cu ateroscleroza și care au apărut și evoluat independent de ea. Factorii meteorologici sînt un alt exemplu de asociere cu incidența crescută a cardiopatiei ischemice avînd, în stadiul actual al cunoștințelor, numai valoarea unor „indicatori" ai riscului, întrucît nu par a fi implicați în patogenia bolii. Astfel se menționează o înmulțire semnificativă a deceselor prin infarct de miocard la Chicago, în zilele cu căderi de zăpadă (ROGOT 1975). În Israel se semnalează creșteri importante ale formelor letale de cardiopatie ischemică în perioadele cînd predomină o „atmosferă turbulentă", caracterizată prin pătrunderea unor mase de aer rece, vînturi puternice și scăderea temperaturii paralel cu aceea a umidității, presiunea barometrică rămînînd ridicată (CECH și col. 1977). Pentru a se ridiculiza tendința exagerată de a se atribui denumirea de factor de risc al aterosclerozei oricărei condiții care se asociază cu o incidență mare a cardiopatiei ischemice, se menționează în numeroase lucrări că între 1940—1960, perioada celei mai dramatice creșteri a numărului de infarcte de miocard în Statele Unite, asocierea cea mai înalt semnificativă a fost cu numărul de posturi de telefon instalate și de aparate de radio și televizor vîndute populației.

O ultimă problemă care merită a fi discutată este asocierea unor factori de risc cu forme specifice de manifestare clinică a aterosclerozei. În acest sens se menționează asocierea înalt semnificativă a hipertensiunii arteriale cu accidentele vasculare cerebrale, iar în anumite lucrări, a tabagismului cu accidentele vasculare coronariene. Se mai susține că ar exista interacțiuni particulare ale factorilor de risc în cardiopatia ischemică cu evoluție fatală (TIBBLIN și

Scanned with OKEN Scanner

col. 1975). Din observaţiile studiilor cu caracter longitudinal de la Albany, New York şi mai ales de la Framingham nu a rezultat un mod particular de asociere a factorilor de risc în perioada ce precede moartea cardiacă subită (DOYLE şi col. 1976).

În încheierea acestor date cu caracter general, menţionăm că unii dintre principalii factori de risc ai aterosclerozei au şi ei proprii lor factori de risc. Astfel, există condiţii asociate cu hipertensiunea arterială care îi potenţează şi agravează evoluţia, influenţînd astfel şi modul de asociere cu ateroscleroza. Dintre factorii de risc ai hipertensiunii arteriale menţionăm rasa, antecedentele familiale, obezitatea şi tahicardia. Aceasta din urmă poate induce o evoluţie severă a unor hipertensiuni arteriale „la limită", ce ar fi rămas ca atare timp mai îndelungat dacă numărul de contracţii miocardice ar fi fost în limitele normale. Rasa joacă şi ea un rol important ca factor de risc al hipertensiunii arteriale, la adolescenţii negrii din Statele Unite tensiunea la limita superioară a normalului determinînd o incidenţă de trei ori mai mare a formelor severe de la adult, în comparaţie cu albii (JULIUS 1977). Diabetul are de asemenea proprii săi factori de risc ce influenţează evoluţia şi implicaţiile în patogenia aterosclerozei (MINCU 1977).

b. ASPECTE PARTICULARE

Nu intenţionăm a face o prezentare exhaustivă a factorilor de risc ai aterosclerozei, limitîndu-ne a lua în discuţie doar pe cei care: a) s-au dovedit a fi semnificativ asociaţi cu riscul apariţiei cardiopatiei ischemice; b) se întîlnesc cu o mare frecvenţă; c) acţionează independent de prezenţa altor factori de risc; d) sînt interceptibili prin intervenţia medicului. Rezultatele studiului longitudinal de la Framingham indică în această categorie: presiunea sistolică peste 160 mm Hg, colesterolemia peste 240 mg/100 ml şi fumatul a peste 20 ţigarete pe zi (KANNEL 1977, 1978).

Marea majoritate a studiilor de epidemiologie au evidenţiat *hipertensiunea arterială* ca principalul factor de risc al aterosclerozei. Ea se situează pe primul plan şi în investigaţiile longitudinale efectuate pe populaţii ce consumă diete bogate în colesterol şi grăsimi saturate, cum sînt cele din Statele Unite (KANNEL 1974). În plus, hipertensiunea arterială apare ca singurul factor de risc important al accidentelor vasculare cerebrale, al aterosclerozei arterei renale, al anumitor trombangeite periferice etc. În Statele Unite 15% din populaţia adultă este sub influenţa acestui factor de risc, avînd atît valorile tensiunii sistolice, cît şi ale celei diastolice, peste limitele normale. O proporţie similară de 15% s-ar găsi la limita superioară a normalului, ceea ce arată că 30% din adulţi sînt supuşi acţiunii mai slabe sau mai puternice a acestui important factor de risc (HOLLANDER 1976). Copiii negri au valori sistolice şi diastolice mai ridicate decît copiii albi de vîrste similare, valori care transpuse la adult, pot intra în sfera hipertensiunii arteriale. Acest rezervor de valori tensionale ridicate explică de ce, după vîrsta de 35—40 de ani, pot fi detectaţi de trei ori mai mulţi negri cu hipertensiune arterială în comparaţie cu albii de sex şi vîrstă similare (VOORS şi col. 1976, 1977 a, b). În întreaga Africă, precum şi în Japonia, Jamaica şi India, foarte mulţi copii au valori peste normal ale tensiunii arteriale, valori ce au fost de asemenea corelate cu incidenţa crescută a hipertensiunii la adulţii din ţările menţionate.

Scanned with OKEN Scanner

Hipertensiunea arterială agravează evoluţia leziunilor de ateroscleroză intensificînd stresurile hemodinamice cu caracter aterogen şi creînd stresuri adiţionale. Ea produce în plus o mărire considerabilă a permeabilităţii celulelor endoteliale pentru toate clasele de lipoproteine şi pentru fibrinogen. Tot în prezenţa hipertensiunii arteriale, eroziunile endoteliale apar mai frecvent, pe suprafeţe mai întinse, afectează şi ţesutul intimal subendotelial şi se cicatrizează greu şi incomplet. În plus apar degradări masive ale fibrelor şi lamelor elastice şi o migrare în masă a celulelor musculare din medie în intimă, rezultînd îngroşări intimale severe. Plăcile gelatinoase din intimele îngroşate au fost frecvent observate la hipertensivi, prezentînd variate aspecte de trecere de la simplul edem intimal la procese de necroză. Date amănunţite asupra implicaţiilor hipertensiunii arteriale în patogenia aterosclerozei sînt prezentate în capitolul II. Spre a sublinia importanţa hipertensiunii arteriale în patogenia aterosclerozei menţionăm, în încheiere, că în studiul de la Framingham, după 18 ani de observaţii longitudinale 37% dintre bărbaţii şi 51% dintre femeile care au decedat prin boli cardiovasculare, aveau hipertensiune arterială în antecedente. Dacă erau incluse şi formele la limită ale hipertensiunii, atunci proporţia creştea la 73% pentru bărbaţi şi 81% pentru femei (KANNEL şi DAWBER 1974).

Un al doilea factor de risc important al aterosclerozei este *hipercolesterolemia*, asocierea ei cu o incidenţă crescută a cardiopatiei ischemice fiind menţionată în majoritatea studiilor de epidemiologie. Mecanismele prin care hipercolesterolemia intervine în patogenia aterosclerozei, agravînd evoluţia leziunilor şi potenţînd caracterul lor obstructiv sînt pe larg analizate în capitolul IV. Menţionăm în acest sens: alterarea permeabilităţii endoteliale; formarea de complexe macromoleculare cu mucopolizaharidele acide din substanţa fundamentală a intimei; degradarea structurilor elastice; reducerea permeabilităţii membranei celulelor musculare netede cu pierderea potasiului şi apei, urmată de dezechilibru osmotic sever, mergînd pînă la moartea celulei; potenţarea sintezei de acizi graşi în mitocondriile celulei musculare din peretele arterial şi a esterificării colesterolului cu acizii graşi neoformaţi; acumulări masive de esteri de colesterol în lizozomii celulelor musculare netede, rezultînd în parte din inhibarea enzimelor cu capacităţi hidrolitice. Hipercolesterolemia este un factor agravant al aterosclerozei, indiferent de natura exogenă sau endogenă a colesterolului. De o gravitate particulară este hipercolesterolemia familială, defectul genetic constînd din absenţa sintezei receptorilor pentru β-lipoproteine pe suprafaţa fibroblaştilor, limfocitelor şi celulelor din peretele arterial (BROWN şi GOLDSTEIN 1976 a, b; BROWN şi col. 1978). Mai sînt supuşi efectului nociv al colesterolului endogen sintetizat în exces, pacienţii cu obezitate ce nu răspund la tratament sau nu fac un tratament adecvat, celula adipoasă avînd aproximativ 4% din capacitatea de sinteză a colesterolului, comparativ cu cea a hepatocitelor.

Al treilea factor de risc important al aterosclerozei este *tabagismul*, în special pentru persoanele care fumează peste 20 de ţigarete pe zi. S-a semnalat nu numai asocierea epidemiologică între fumat şi incidenţa crescută a cardiopatiei ischemice, ci şi între numărul de ţigarete fumate pe zi şi gradul de îngroşare a intimei arterelor coronare şi de obstruare a arteriolelor intramiocardice. Substanţele conţinute în fumul de tutun afectează în special arterele mici şi arteriolele, dînd naştere la îngroşări intimale şi edem, precum şi la alterări ale ţesutului elastic rezultînd un tablou anatomo-patologic independent de cel

Scanned with OKEN Scanner

al aterosclerozei. Aceste alterări proprii tabagismului au fost detectate la peste 90% dintre fumătorii ce consumau cel puţin două pachete de ţigarete pe zi (AUERBACH şi col. 1976). Leziunile induse de componentele fumului de tutun nu se limitează la arterele coronare, ci afectează toate teritoriile arteriale din organism. Devin severe în stadii finale de evoluţie cînd se asociază cu procese de tromboză putînd rezulta obliterarea totală a vasului respectiv. Aceste tromboze au fost detectate în teritorii vasculare rezistente la apariţia leziunilor de ateroscleroză, cum ar fi de exemplu ramurile lobulare ale arterei pulmonare şi arterei bronhice (LUPU şi VELICAN 1959). Aspectele de îngroşări intimale severe şi tromboze intraarteriolare detectate în vasele intramiocardice reflectă o creştere a rezistenţei periferice cu reducerea debitului sanguin către celulele contractile. Pe de altă parte, substanţele conţinute în fumul de tutun au şi capacitatea de a mări debitul cardiac şi rata contracţiei miocardului. Asocierea acestor acţiuni cu rezistenţa periferică menţionată creează condiţiile apariţiei unor zone de ischemie şi necroză miocardică independente de afectarea aterosclerotică. În afara acţiunii directe asupra peretelui arterial, substanţele componente ale fumului de tutun determină eliberarea adrenalinei şi noradrenalinei din medulosuprarenală şi din terminaţiile nervoase simpatice; „injectează" în circulaţie hormoni corticosuprarenali; mobilizează acizi graşi din ţesutul adipos; măresc capacitatea de aderare, agregare şi degranulare a trombocitelor. Fumul de tutun reprezintă şi o sursă de cadmiu, crescînd în sens aterogen raportul cadmiu/zinc. În sfîrşit, el mai reprezintă şi principala sursă de hidrocarburi cancerigene de tipul benzpirenului. Aceste substanţe mutagene pot pătrunde în circulaţia fătului încă din cursul vieţii intrauterine, fiind prezente în mare cantitate în placenta femeilor fumătoare (JUCHAU şi col. 1974). În sînge circulă transportate mai ales de β-lipoproteine şi se acumulează în peretele arterial împreună cu aceste macromolecule. S-a sugerat că hidrocarburile cancerigene vehiculate de lipoproteine ar stimula proliferarea monoclonală a celulelor musculare netede din peretele arterial, rezultînd formarea plăcilor aterosclerotice (BENDITT 1976). De un interes deosebit apar şi lucrările care menţionează scăderea valorilor α-lipoproteinelor sub acţiunea fumului de tutun, reducîndu-se astfel capacitatea organismului de a elimina colesterolul acumulat în peretele arterial (GOLDBOURT şi MEDALIE 1977). Ar exista o asociere negativă între numărul de ţigarete fumate pe zi şi cantitatea de colesterol din α- lipoproteine (GARRISON şi col. 1978). S-a mai sugerat o relaţie cauzală tabagism — ateroscleroză, bazată pe valorile extrem de ridicate ale monoxidului de carbon şi mai ales ale carboxihemoglobinei (ASTRUP 1973). Ar mai fi de menţionat că efectele nocive ale substanţelor componente ale fumului de tutun nu se exercită numai asupra peretelui arterial, ci şi asupra miocardului şi sistemului de conducere al cordului.

În ceea ce priveşte efectele renunţării la fumat asupra incidenţei cardiopatiei ischemice, rezultatele sînt încurajatoare, obţinîndu-se uneori scăderi „dramatice" (ARONOW şi ROKAN 1971; GORDON şi col. 1974; WALD 1976). Se susţine că renunţarea la fumat de către un hipertensiv „la limită" are o valoare similară cu aceea a tratării medicale a hipertensiunii arteriale (ROSE 1973). Se mai susţine că rolul tabagismului în agravarea evoluţiei aterosclerozei, mai ales coronariene este atît de evident şi de constant încît *combaterea obiceiului de a fuma trebuie să devină acţiunea prioritară în prevenirea primară a aterosclerozei* (BORHANI 1977).

Scanned with OKEN Scanner

Un factor de risc cu implicaţii multiple în patogenia aterosclerozei este *diabetul*. Aceste implicaţii patogenice au fost în mod amănunţit şi competent analizate pe baza datelor din literatură şi a unei bogate experienţe personale, într-o monografie recentă, apărută în aceeaşi editură (MINCU 1977) şi nu vom mai insista asupra acestui subiect.

La sfîrşitul veacului trecut, OSLER (1892) scria: „Viaţa în viteză şi stresul vieţei moderne induc degenerarea arterelor coronare care este nu numai foarte răspîndită, dar apare şi la vîrste foarte tinere. Cred că tensiunea nervoasă în care sîntem obligaţi a trăi şi solicitarea atît de mare a organismului sînt responsabile, mai mult decît mîncarea şi băutura, de apariţia bolilor de inimă". Astfel s-a formulat, cu aproape 90 de ani în urmă, rolul de factor de risc a ceea ce denumim astăzi „*stres psihic*".

Se susţine că ar exista un mod particular de comportare predictiv pentru manifestarea clinică a aterosclerozei. Aceşti subiecţi, denumiţi „tip A", ar fi ameninţaţi în proporţie de aproximativ 90% de a face infarct de miocard înaintea vîrstei de 60 de ani. Comportamentul tipului A este caracterizat prin: intensă activitate profesională, efort mare de voinţă, dorinţă de reuşită în viaţă cu caracter obsesiv, agresivitate ridicată, competivitate ridicată, ostilitate faţă de trecut şi de prezent, sentiment continuu de criză de timp, nerăbdare, vorbire sacadată cu izbucniri violente, mimică ce exprimă conflicte interioare, mişcări dezordonate ale membrelor etc. (FRIEDMAN şi ROSENMAN 1968, 1974). Adulţii cu tip A de comportare au valori mai ridicate ale colesterolemiei, timp de coagulare mai scăzut, cantităţi mai mari de catecolamine în circulaţie. La examenele *post mortem* leziunile de ateroscleroză ar avea o întindere de 2—3 ori mai mare decît la subiecţii cu o comportare „normală". O parte dintre aceste modificări umorale şi lezionale au putut fi reproduse experimental prin lezarea hipotalamusului (ROSENMAN 1968; FRIEDMAN şi ROSENMAN 1974).

În stadiul actual al cunoştinţelor noastre în acest domeniu, nu se poate vorbi de existenţa unui mod de comportare ce ar fi obiectivizat prin metode de laborator şi ar avea valoarea unui factor de risc implicat în patogenia aterosclerozei. Aceasta rezultă şi din multitudinea de interpretări dată stresului psihic cu caracter aterogen, menţionîndu-se în perioada ce precede infarctul: suprasolicitarea mecanismelor nervoase de apărare prin dificultăţi de ordin personal, pierdere de prestigiu sau de bani, frustări pe plan afectiv (DEFOURNY şi col. 1972); stări prelungite de descurajare, pierderea sentimentului de valoare personală (BERSIER 1977); nivel redus de pregătire profesională în raport cu munca efectuată, sentimentul de inferioritate profesională, asumarea unor răspunderi prea mari, absenţa relaxării psihice (SPITTLE şi JAMES 1977); emoţii supracontrolate, tendinţe obsesive, insomnii rebele (JENKINS 1976) etc. Pe baza existenţei unui stres psihic aterogen se încearcă a se explica incidenţa mai mare a infarctelor de miocard în zona de est a Finlandei comparativ cu zona de vest. În zona de est, populaţia a fost supusă timp de mai mulţi ani la stări de tensiune prelungită, migraţii şi războaie (RAHE şi col. 1976). În Elveţia, asocierea stresurilor vieţii moderne cu o alimentaţie bogată în colesterol şi grăsimi saturate nu a dus la creşterea incidenţei cardiopatiei ischemice la nivelul celei din ţara vecină, Republica Federală Germania, diferenţa fiind atribuită tot stărilor de tensiune psihică din perioada ce a precedat cel de al doilea război mondial şi din cursul acestui răz-

Scanned with OKEN Scanner

boi. Pe de altă parte, în lagărele de concentrare din timpul războiului, cu toate stresurile psihice numeroase şi severe, incidenţa cardiopatiei ischemice s-a redus, datorită probabil alimentaţiei deficitare. Ea a crescut apoi progresiv în anii de după război cînd stresurile psihice au fost mai mici, dar s-a îmbunătăţit standardul de viaţă. Supuşi unor stresuri similare ale vieţii moderne, Japonezii stabiliţi în Hawai, unde consumă o dietă de tip american, prezintă o incidenţă cu peste 30% mai ridicată a cardiopatiei ischemice în comparaţie cu cei de vîrstă similară rămaşi în Japonia şi consumînd dieta tradiţională; proporţia creşte cu peste 50% pentru Japonezii stabiliţi în California, Statele Unite (ROBERTSON şi col. 1977 a, b).

Corelat cu datele menţionate se impune discutarea rolului *dietei* ca factor de risc al aterosclerozei. Numeroase date asupra acestui rol sînt prezentate în capitolele IV şi VI al acestui volum, menţionîndu-se şi caracterul contradictor al rezultatelor publicate în literatura de specialitate. Concluziile lucrărilor recente susţin că influenţa unui anumit tip de dietă asupra valorilor colesterolemiei şi evoluţiei leziunilor de ateroscleroză este suma efectelor tuturor componentelor dietei. Aceste efecte includ atît acţiuni specifice individuale, cît şi interacţiuni ce pot modifica efectele specifice ale unor componente individuale (KRITCHEVSKY 1978, a, b, c).

În studiile longitudinale de la Framingham şi Tecumseh nu s-au putut stabili relaţii cauzale între dietă şi cardiopatia ischemică (NICHOLS şi col. 1976; KANNEL 1977, 1978). La numeroase alte grupe de populaţii apare evidentă asocierea unui număr mai mare şi mai sever de plăci aterosclerotice cu diete hipercalorice, bogate în grăsimi saturate şi proteine animale şi sărace în fibre nedigerabile. Pe de altă parte nu se poate contesta faptul că şi în tuberculoză, dieta hipocalorică, respectiv subalimentaţia, reprezintă un factor ce măreşte incidenţa leziunilor şi severitatea evoluţiei lor. S-ar mai putea da numeroase alte exemple din care să rezulte că problema dietei are implicaţii extrem de largi în patologia umană, umbrite în parte de valoarea excesivă ce i se atribuie în ateroscleroză. În consecinţă trecerea de la „patoalimentaţie" (MINCU 1977) de tip hipercaloric sau hipocaloric, sau de altă natură, la o alimentaţie raţională reprezintă o politică de educaţie sanitară ce depăşeşte cu mult cadrul limitat al cardiopatiei ischemice.

În corelaţie cu dieta este tot mai des discutată problema *durităţii apei*. În zonele cu apă cu duritate redusă se constată atît indici ridicaţi, cît şi indici reduşi de mortalitate prin cardiopatie ischemică; dimpotrivă, în zonele cu duritate ridicată a apei, apare numai o mortalitate redusă. Apa nu ar acţiona ca factor de risc cînd duritatea este ridicată, dar poate avea această acţiune cînd duritatea este scăzută. Apa ar putea să exercite însă şi efecte protectoare; ele s-ar produce în mod constant cînd duritatea este ridicată şi doar uneori, cînd duritatea apei este coborîtă. Ar mai trebui menţionat că la adulţii decedaţi prin cardiopatie ischemică în zonele cu duritate redusă a apei, s-au găsit valori subnormale ale magneziului din celula miocardică. Aceasta ar sugera că ne aflăm în prezenţa unui factor implicat nu în patogenia aterosclerozei, ci în creşterea susceptibilităţii miocardului la variate tipuri de injurii (ANDERSON şi col. 1975).

În cursul ultimului deceniu anumiţi autori au susţinut că dintre lipidele serice nivelul colesterolemiei nu este cel mai bun indiactor al riscului, situînd pe primul plan *hipertrigliceridemia* (BROWN şi col. 1965; ROSENMAN şi

Scanned with OKEN Scanner

col. 1970; CARISON şi BOETTINGER 1972; BRUNNER şi col. 1977). Se afirmă că valoarea trigliceridelor ar fi de importanţă deosebită mai ales la tineri, calitatea de factor de risc a hipertrigliceridemiei apărînd cu atît mai evidentă cu cît nivelul colesterolemiei este mai coborît. Implicarea trigliceridelor în patogenia aterosclerozei nu a fost larg acceptată, valoarea ca factor de risc apărînd contradictorie chiar în lucrări publicate în aceeaşi ţară (CARLSON şi BOETTINGER 1972; WILHELMSEN şi col. 1973). În studiul de la Framingham, valorile trigliceridemiei au putut fi corelate cu riscul de a face cardiopatie ischemică numai la femeile ce au depăşit vîrsta de 50 de ani (KANNEL şi col. 1971). Hipertrigliceridemia a fost implicată şi ca factor de risc al obstruării grefelor de venă safenă implantate în circulaţia coronariană pentru revascularizarea chirurgicală a miocardului (ALLARD şi col. 1974). S-au notat creşteri semnificative ale trigliceridelor şi la 8% dintre bărbaţii şi 17% dintre femeile cu accidente vasculare cerebrale, asociate cu scăderi semnificative ale valorilor α-lipoproteinelor (ROSSNER şi col. 1978). Modul cum sînt implicate aceste lipide în patogenia aterosclerozei este greu de precizat. Ele nu participă la acumulările intralezionale, nu produc experimental modificări structurale ale peretelui arterial, dar influenţează procesele de tromboză prin acizii graşi pe care îi conţin, afectînd în special aderarea şi degranularea trombocitelor (RENAUD 1977). S-a constatat creşterea valorilor trigliceridelor şi a tendinţei la tromboză la populaţiile care consumă diete bogate în sucroză (YUDKIN 1963, 1978).

Rolul *obezităţii* ca factor de risc în ateroscleroză continuă să rămînă un subiect controversat. În studiul de patologie geografică a aterosclerozei, efectuat sub egida OMS pe aproximativ 30 000 cazuri din 14 ţări, nu s-au găsit asocieri semnificative între întinderea şi severitatea leziunilor, pe de o parte şi greutatea corporală, pe de altă parte (McGILL 1968). Un alt studiu mai recent de patologie geografică, tot sub egida OMS, pe aproximativ 18 000 cazuri din 3 ţări cu standard de viaţă ridicat, menţionează asocierea semnificativă a severităţii leziunilor cu sedentarismul şi obezitatea (KAGAN 1977). În cercetările de la Framingham, s-a afirmat iniţial că nu ar exista corelaţii între obezitate şi nivelul colesterolemiei, ci doar o slabă asociere între obezitate şi manifestările clinice ale aterosclerozei (KANNEL şi col. 1967). Observaţii ulterioare au demonstrat însă creşteri ponderale ale cazurilor urmărite ce s-au asociat cu creşterea valorilor colesterolemiei (ASHLEY şi KANNEL 1974). În studiul epidemiologic denumit „International Cooperative Study on Cardiovascular Diseases", s-a ajuns la concluzia că nu există corelaţii între caloriile totale furnizate de dietă, obezitate, nivelul colesterolemiei şi incidenţa cardiopatiei ischemice (KEYS şi col. 1966). O altă investigaţie similară notează, dimpotrivă, asocierea sedentarismului şi obezităţii cu hipercolesterolemia şi cu incidenţa crescută a cardiopatiei ischemice (LEELARTHAEPIN şi col. 1974). Şi în cercetări efectuate la noi în ţară se menţionează creşteri paralele ale tensiunii arteriale, colesterolemiei şi supraponderii (VLAICU şi col. 1976). Exemple de asocieri, cînd semnificative, cînd nesemnificative, între obezitate şi cardiopatia ischemică se întîlnesc frecvent în literatură. Mulţi autori susţin că obezitatea este în primul rînd un factor de risc al hipertensiunii arteriale, influenţînd ateroscleroza prin intermediul valorilor sistolice şi diastolice crescute. Nu trebuie însă trecut cu vederea faptul că celulele din depozitele adipoase sintetizează continuu colesterol, participînd la agravarea evoluţiei aterosclerozei şi prin contribuţia lor la menţinerea unor valori ridicate ale coleste-

Scanned with OKEN Scanner

rolemiei. De aceea educarea populației ca printr-o dietă adecvată și exerciții fizice să-și mențină o greutate în limite fiziologice încă din copilărie constituie unul dintre obiectivele principale în încercările de prevenire primară a aterosclerozei. Dealtfel numeroși autori care acordă o importanță redusă obezității ca factor de risc în ateroscleroză, menționează totuși în lucrările lor că reducerea ponderală s-a asociat cu scăderea valorilor tensiunii arteriale, colesterolemiei, trigliceridemiei, precum și cu creșterea toleranței la glucoză.

Rolul unor *turburări endocrine* ca factori de risc în ateroscleroză a trezit un anumit interes datorită observațiilor ce menționau creșterea semnificativă a incidenței manifestărilor clinice ale cardiopatiei ischemice la femeile ajunse la menopauză. În studiul de la Framingham au fost investigate 1686 femei între 40—51 ani în momentul începerii cercetărilor, evidențiindu-se o creștere a valorilor colesterolemiei: a) între premenopauză și menopauză; b) în cursul menopauzei; c) în menopauzele induse chirurgical prin ablația ovarelor. Femeile între 40—51 ani la care ciclul menstrual a încetat, au avut în mod constant valori mai ridicate ale presiunii sanguine și colesterolemiei în comparație cu femeile de vîrste similare la care ciclul menstrual a continuat să funcționeze normal. S-a subliniat caracterul „imediat" al creșterii valorilor colesterolemiei după încetarea ciclului menstrual (HJORTLAND și col. 1976). Nu s-au semnalat modificări concomitente ale glicemiei și greutății corporale. Există și observații negative, ce nu atribuie menopauzei valoarea de factor de risc al cardiopatiei ischemice, fie că este vorba de menopauza naturală, fie de cea artificială (BLANC și col. 1977). În cursul ultimului deceniu au apărut lucrări tot mai numeroase ce atrag atenția asupra incidenței crescute a accidentelor trombo-embolice și mai ales a infarctului de miocard, după contraceptive orale. Această creștere este estimată a fi de 8—10 ori (VESSEY și DOLL 1969; MASI și DUGDALE 1970). Estrogenii din pilule ar acționa ca factori de risc mărind adezivitatea trombocitelor și activitatea factorilor de coagulare VII și X. Riscul legat de folosirea contraceptivelor orale ar fi mai mare la femeile ce sînt deja sub influența altor factori de risc ai aterosclerozei și în primul rînd a hipertensiunii arteriale. În afara potențării apariției trombozelor, contraceptivale orale ar putea fi implicate și în alte mecanisme patogenice ale aterosclerozei întrucît examenele coronarografice nu detectează frecvent prezența obstrucțiilor în arterele coronare (ENGEL și col. 1977). Indiferent de modul în care apar infarctele de miocard, rămîne un fapt de observație de necontestat asocierea statistic semnificativă între mortalitatea și morbiditatea prin aceste infarcte și folosirea contraceptivelor orale (MANN și col. 1975).

Numeroase alte date privind implicarea factorilor de risc în patogenia aterosclerozei vor fi prezentate în capitolele II—VI ale monografiei.

c. VALOARE PREDICTIVĂ

Cercetările de epidemiologie au demonstrat că anumiți factori de risc sînt predictivi pentru apariția manifestărilor clinice ale aterosclerozei, în special a cardiopatiei ischemice. Plecîndu-se de la aceste constatări, s-au propus variate formule de calcul al riscului, luîndu-se în considerație tipul și numărul factorilor de risc, precum și intensitatea acțiunii lor. Sînt incluse în acest calcul vîrsta, sexul, valorile tensiunii sistolice și diastolice, valorile colesterolemiei, trigliceridemiei și glicemiei, numărul de țigarete fumate pe zi, prezența diabe-

Scanned with OKEN Scanner

tului, obezității și sedentarismului, existența antecedentelor familiale de boli cardiovasculare, modificări ale traseului electrocardiografic etc. Pa baza acestui set de teste cazul investigat este inclus în grupul celor la risc mare, mediu sau redus, valoarea predictivă fiind mai mare pentru bărbații decît pentru femeile de vîrstă similară.

Un subiect de o importanță deosebită pentru aprecierea valorii predictive a factorilor de risc este modul lor de asociere și de interacțiune (STEINBACH 1975). În prezența hipertensiunii arteriale, hipercolesterolemiei și fumatului excesiv, riscul nu crește de trei ci de nouă ori. O astfel de creștere prin însumare geometrică și nu aritmetică, a fost detectată la pacienți avînd presiunea diastolică peste 9 mm Hg, colesterolemia peste 250 mg/100 ml și fumînd peste un pachet de țigarete pe zi. Riscul crește și cu vîrsta, mai ales în perioada 35—45 ani; în studiul de la Framingham, persoanele ținute sub observație timp de peste 20 de ani au prezentat o creștere a riscului de la 13% la 62% pentru bărbați și de la 5% la 41% pentru femei, vîrsta de la care au început investigațiile fiind de 35 de ani pentru ambele sexe (KANNEL și col. 1976 b). Tot din studiul de la Framingham a mai rezultat că există o relație aproape liniară între valorile colesterolemiei și riscul de a face cardiopatie ischemică, acest risc fiind continuu de la valorile cele mai joase pînă la cele mai ridicate. Drept urmare nu se poate susține că există un prag al colesterolemiei sub care un adult este în afara pericolului de a face infarct de miocard. Există însă o creștere a riscului cu cît valorile colesterolemiei sînt mai ridicate, riscul mărindu-se cu cubul valorilor colesterolemiei. La o colesterolemie de 200 mg/100 ml „șansa" de a face infarct de miocard este de 1/10, iar la o colesterolemie de peste 250 mg/100 ml de 1/5. În decurs de 20 de ani, un subiect de sex masculin de vîrstă adultă, cu colesterolemie sub 200 mg/100 ml are un risc de cinci ori mai mic de a face infarct de miocard în comparație cu un subiect de vîrstă similară cu o colesterolemie depășind 250 mg/100 ml (KANNEL 1977). Pentru un adult de 35 de ani, de sex masculin, cu o colesterolemie de 185 mg/100 ml, cu o presiune arterială sistolică de 135 mm Hg, nefumător, „șansa" de a face infarct de miocard în decurs de șase ani ar fi de numai 0,5%. Dacă valorile colesterolemiei și ale tensiunii arteriale se ridică peste limitele superioare ale normalului și adultul respectiv începe să fumeze, „șansa" se ridică la aproape 17% (BORHANI 1977). Tabagismul suprapus altor factori de risc dublează „șansa" de a face infarct de miocard, fumatul fiind mai nociv la subiecții la risc ridicat. Capacitatea substanțelor conținute în fumul de tutun de a accelera efectul nociv al altor factori de risc și de a mări severitatea acțiunii lor este atît de evidentă în lucrările publicate în acest domeniu încît, așa cum am mai menționat, se insistă ca măsurile de prevenire primară a cardiopatiei ischemice să înceapă cu renunțarea la fumat.

Valoarea predictivă a hipercolesterolemiei apare evident și din studiul hiperlipoproteinemiilor. Din datele existente în literatură hipercolesterolemia familială induce manifestări clinice de cardiopatie ischemică în jurul vîrstei de 45 de ani, hipertrigliceridemia familială la 57 de ani și hiperlipoproteinemiile mixte la aproximativ 52 de ani. Dacă se iau în considerație toate cele trei tipuri menționate, rezultă apariția cu cel puțin 11 ani mai devreme a infarctelor de miocard la subiecții cu hiperlipoproteinemii primare, în comparație cu subiecții „normali" de vîrste similare. Aceleași date duc la concluzia că formele letale de cardiopatie ischemică sînt de două ori mai frecvente în familiile celor cu hiperlipoproteinemii de origine genetică, în comparație cu adulții fără ascendenți cu astfel de afecțiuni. În anumite familii cu hiperlipoproteinemii primare primele semne de cardiopatie ischemică au fost detectate la 19% dintre bărbați înaintea vîrstei de 40 de ani și la 45% dintre bărbați după vîrsta de 50 de ani (JENSEN și col. 1967). În aceeași familie, subiecții cu hiperlipoproteinemie prezintă un risc de aproximativ opt ori mai mare de cardiopatie ischemică în jurul vîrstei de 40 de ani, în comparație cu normalii de vîrstă similară; la 60 de ani diferența se reduce, fiind numai de patru ori mai mare (STONE și col. 1974).

Un factor predictiv a cărui importanță este tot mai mult demonstrată îl reprezintă colesterolul din α-lipoproteine. Numeroase observații susțin că valorile acestui colesterol sub 35 mg/100 ml constituie un indicator deosebit de util în prezicerea riscului de apariție a cardiopatiei ischemice. Se mai susține absența manifestărilor clinice ale bolii atîta timp cît valorile colesterolului din α-lipoproteine nu scad sub 45 mg/100 ml. În studiul de la Framingham, asocierea inversă între nivelul colesterolului din α-lipoproteine și incidența cardiopatiei ischemice a apărut, de asemenea, foarte demonstrativă, în special la subiecții ce depășiseră vîrsta de 50 de ani (GORDON și col. 1977).

În ceea ce privește caracterul predictiv al valorilor tensiunii arteriale sistolice și diastolice, menționăm, tot pe baza observațiilor efectuate la Framingham, asocierea unor valori „normale", între 120 și 139 mm Hg cu un risc de 3—8 ori mai mare de infarct de miocard

în comparație cu valori tot „normale" sub 120 mm Hg. În decurs de 10 ani, din primul grup au prezentat manifestări clinice de cardiopatie ischemică 20% dintre subiecți, iar din al doilea numai 5%. Cu o presiune diastolica de 105 mm Hg sau depășind această valoare, riscul a fost aproximativ de patru ori mai mare decît cu o presiune diastolică sub 85 mm Hg. Din datele publicate de „National Cooperative Pooling Project" (INTERSOCIETY COMISSION FOR HEART DISEASE RESOURCES 1970), rezultă că incidența primului accident major de cardiopatie ischemică a fost de peste trei ori mai mare la adulții cu presiune diastolică peste 105 mm Hg, colesterolemie de aproximativ 300 mg/100 ml și fumători a peste 20 de țigarete pe zi, în comparație cu lotul martor în care presiunea diastolică era normală. În decurs de 10 ani, primul infarct a apărut cu o frecvență de 21/1000 la subiecții fără factori de risc, de 90/1000 la subiecții supuși acțiunii a doi factori de risc și de 171/1000 la subiecții supuși acțiunii a trei factori de risc. Și în alte studii se menționează o incidență de 7—10 ori mai mare a manifestărilor clinice ale cardiopatiei ischemice la adulți hipertensivi, hipercolesterolemici și supraponderali, în comparație cu normotensivii, normocolesterolemicii și normoponderalii de vîrste similare (ORHA 1971).

Dacă într-un grup populațional în studiu se detectează 1000 de bărbați între 40—50 de ani sub acțiunea mai multor factori de risc, fiind încadrați în categoria celor cu „șansa" de a face cel mai rapid infarcte de miocard, se poate prezice, pe baza experienței din literatură, apariția acestui infarct la 10% dintre ei în decurs de 10 ani. Dintre cei 100 de bărbați cu infarct se presupune că 25 (respectiv 25%) vor muri subit în decurs de o oră de la apariția infarctului, înainte de a ajunge la spital pentru a primi îngrijirile necesare. Din restul de 75, aproximativ 20 vor muri în interval de o lună de la începutul manifestărilor accidentului coronarian acut, ridicînd mortalitatea prin infarct de miocard la 45% în decursul primei luni. Aproximativ 50% dintre subiecții ce intră în categoria celor cu risc ridicat și sînt în iminență de a face infarct de miocard, nu prezintă semne clinice sau paraclinice care să anunțe accidentul vascular coronarian (FERLINZ și ARONOW 1977).

Atîta timp cît nu vom cunoaște care sînt agenții etiologici și cum poate fi contracarat efectul lor nociv asupra peretelui arterial, strategia prevenirii primare a aterosclerozei trebuie să se bazeze pe eliminarea factorilor de risc.

După identificarea grupelor de populație la risc ridicat, mediu și redus, se analizează cauzele acestor diferențe și se încearcă înlăturarea lor. Întrucît incidența cardiopatiei ischemice pare a fi de trei ori mai mare în prezența factorilor de risc decît în absența lor, se poate deduce că vom obține o anumită scădere a mortalității și morbidității prin infarct de miocard acționînd asupra hipertensiunii arteriale, hipercolesterolemiei, tabagismului, diabetului, obezității etc. Rezultatele obținute pînă acum nu sînt cele dorite și așteptate, dar a persevera pe această linie reprezintă, la ora actuală, singura posibilitate de valorificare în practică a imensului material faptic acumulat timp de mai multe decenii.

În Statele Unite, în anul 1972 au fost 800 000 de cazuri de infarct de miocard, dintre care aproximativ jumătate au avut o evoluție fatală (FEINLEIB și DAVIDSON 1972); în 1976, numărul infarctelor de miocard s-a ridicat la 1 200 000, creșterea cu aproximativ 400 000 în decurs de patru ani avînd loc în condițiile unei susținute campanii de eliminare a factorilor de risc (ELLESTAD și HALLIDAY 1977). În ultimii ani se constată o tendință de menținere la nivelul cel mai ridicat atins în 1976, iar în anumite grupe de populații s-au evidențiat și scăderi ale incidenței infarctului între 10—20%. În Republica Federală Germania, între 1952—1974 incidența infarctelor de miocard a crescut de aproximativ cinci ori, iar în perioada 1967—1977 s-a dublat, deși s-au pus în practică anumite măsuri de prevenire primară (SCHETTLER 1977). S-ar putea cita, de asemenea, rezultatele neconcludente sau chiar negative obținute în unele studii cu caracter longitudinal privind prevenirea primară a cardiopatiei ischemice, efectuate în Statele Unite, Anglia, peninsula Scandinavică și în alte țări din America și Europa, precum și studiile de o mare acuratețe și tehnicitate efectuate de National Institute of Health din

Scanned with OKEN Scanner

Bethesda, de către „Coronary Drug Project Research Group" (1973, 1975) și „Veterans Administration Cooperative Study" (1970). Numeroase colective care efectuează studii longitudinale nu și-au publicat însă concluziile nici măcar preliminare, fiind necesar probabil un interval de timp de încă cel puțin cinci ani pentru o evaluare globală a tuturor rezultatelor. Este foarte probabil ca aceste rezultate să includă unele date pozitive, dar și multe altele neconcludente sau chiar negative lăsînd aceeași incertitudine asupra posibilităților noastre actuale de a preveni în mod eficient cardiopatia ischemică, îndoieli ce apar și după parcurgerea literaturii publicate pînă la sfîrșitul anului 1978. Un defect major al acestor studii longitudinale este investigarea numai a persoanelor adulte, intervenția cu caracter preventiv producîndu-se în momentul în care marea majoritate a subiecților au deja plăci aterosclerotice în arterele coronare. Se încearcă astfel prevenirea trecerii bolii din stadiul subclinic în cel al manifestărilor clinice și nu prevenirea apariției leziunilor. Devin tot mai numeroase recomandările de a începe studiile pe loturi de copii ținuți la diete antiaterogene pînă la decada 51—60 de ani, cînd apar manifestările clinice de cardiopatie ischemică. Aceste studii longitudinale vor necesita observații efectuate de-a lungul a cel puțin 40 de ani de către două generații de medici. Dacă rezultatele vor aduce date concludente, efortul și așteptarea vor fi din plin recompensate.

Concomitent cu încercările de a se obține o prevenire primară a cardiopatiei ischemice prin eliminarea factorilor de risc, se depun eforturi pentru identificarea unui *patern* al lipoproteinelor cu caracter antiaterogen. Rezultatele publicate în ultimii ani conturează acest *patern* ca incluzînd o hiper-α-lipoproteinemie și o hipo-β-lipoproteinemie. Analiza sîngelui din cordonul ombilical a evidențiat că din populația neselecționată 1/300—1/3 000 se naște cu acest *patern* antiaterogen (GLUECK și colab., 1978). Cercetări experimentale își propun descoperirea de medicamente care să stimuleze sinteza de α-lipoproteine și să inhibe formarea β-lipoproteinelor.

Rezultate spectaculare privind prevenirea primară nu numai a cardiopatiei ischemice, ci și a celorlalte forme de manifestare clinică a aterosclerozei vor fi cu siguranță obținute după ce vom cunoaște agenții etiologici al bolii. Pe această linie ar trebui centrate în viitor eforturile conjugate ale tuturor colectivelor de cercetare.

Scanned with OKEN Scanner

II. ROLUL ATEROGEN POTENȚIAL AL STRESURILOR HEMODINAMICE

A. INTERRELAȚIILE STRES HEMODINAMIC — PERETE ARTERIAL

1. DATE INTRODUCTIVE

Cercetările de patologie comparată au evidențiat extrema raritate a plăcilor aterosclerotice la pești și reptile și prezența lor în număr considerabil la păsări. Această incidență crescută a fost corelată cu mărirea semnificativă a valorilor tensiunii arteriale odată cu trecerea de la poikiloterme la homeoterme. Și la om plăcile aterosclerotice sînt absente în vasele cu presiune intraluminală redusă, cum ar fi venele și artera pulmonară și apar în număr considerabil în arterele mari și mijlocii unde presiunea intravasculară atinge valorile cele mai ridicate. Exemplul cel mai demonstrativ privind existența unor stresuri hemodinamice cu caracter aterogen și neaterogen îl constituie observația comparativă a aortei și arterei pulmonare. În cursul sistolei presiunea în ventriculul stîng se ridică pînă la 120 mm Hg rezultînd aceleași valori și ale presiunii sistolice din aortă. Concomitent, datorită elasticității arcului și segmentului toracic al aortei, precum și datorită rezistenței periferice, ia naștere o presiune diastolică de aproximativ 80 mm Hg. În ventriculul drept presiunea sistolică se ridică la numai 25 mm Hg; aceeași presiune este prezentă în cursul sistolei și în artera pulmonară, iar rezistența periferică din mica circulație determină o presiune diastolică de aproximativ 10 mm Hg. Tensiunea arterială de 120/80 mm Hg este aterogenă atît pentru peretele aortei însăși, cît și pentru tuburile de material plastic grefate în aortă. Dimpotrivă, tensiunea arterială de 25/10 mm Hg prezentă în artera pulmonară nu are caracter aterogen; drept urmare, dezvoltarea plăcilor aterosclerotice și în artera pulmonară implică apariția unei hipertensiuni în mica circulație, cu valori sistolice și diastolice apropiate de cele din aortă.

Numeroase exemple din literatură aduc dovezi indirecte suplimentare asupra prezenței în arterele mari și mijlocii a unor stresuri hemodinamice cu caracter aterogen. În primul rînd pentru această existență pledează localizările preferențiale ale plăcilor aterosclerotice în zonele de bifurcații, emergențe, curburi și schimbări bruște ale geometriei arterei. Aceste observații privesc

Scanned with OKEN Scanner

atît ateroscleroza umană, cît şi cea comparată şi experimentală. S-au pus la punct modele chirurgicale de stenozare, răsucire, cudare etc. a arterelor care permit formarea plăcilor aterosclerotice în zonele dorite de experimentator (GYURKO şi SZABO 1969). În al doilea rînd sînt de luat în consideraţie dovezile indirecte furnizate de anomaliile de distribuţie ale arterelor. Astfel, la subiecţii la care artera coronară stîngă ia naştere din artera pulmonară, iar cea dreaptă din aortă, se poate constata în coronara stîngă absenţa îngroşării intimei, absenţa formării plăcilor fibroase şi dezvoltării altor procese patologice incluse în tabloul lezional al aterosclerozei. Dimpotrivă, în coronara dreaptă, intima apare mult îngroşată iar afectarea aterosclerotică intensă, cu leziuni ce ajung rapid la forme complicate (BURCH şi DEPASQUALE 1964). La subiecţii care se nasc cu zona de emergenţă a uneia dintre arterele coronare parţial stenozată, sau la care se produc în cursul vieţii calcificări masive în zona de emergenţă aortică, debitul sanguin ce pătrunde în respectiva arteră coronară este mai mic decît cel normal. Rezultă un stres hemodinamic mai puţin intens, o intimă puţin îngroşată şi absenţa afectării aterosclerotice pînă la vîrsta adultă (MESTEL şi colab. 1964). Alte dovezi indirecte privind rolul aterogen potenţial al stresurilor hemodinamice ar mai putea fi considerate: dezvoltarea plăcilor pe valvulele mitralei exact în punctul unde jetul sistolic loveşte aceste valvule (WALTON şi colab. 1970); formarea plăcilor aterosclerotice în amonte de coarctaţia aortei (SAKO 1962); apariţia plăcilor în zona unde există fluxuri turbulente (SCHWARTZ şi MITCHELL 1962); afectarea aterosclerotică a segmentului de venă al fistulelor şi şunturilor arterio-venoase, a segmentului de venă grefat în circulaţia coronariană pentru revascularizarea chirurgicală a miocardului, a venelor la care în mod experimental presiunea intraluminală a fost ridicată la valorile celei din artere (RIVKIN şi colab. 1963; STEIN şi colab. 1966, FLATHERY şi colab. 1972); afectarea aterosclerotică a tuburilor de material plastic grefate în circulaţia arterială (TARIZZO şi colab. 1961). Din toate aceste date acumulate în cursul ultimilor două decenii apare evident faptul că peretele arterial nu este indispensabil pentru formarea plăcilor aterosclerotice, acestea putînd să se dezvolte şi în peretele venelor sau în „neointima" tuburilor de material plastic. Pe de altă parte, este tot atît de evident faptul că stresul hemodinamic existent în arterele mari şi mijlocii constituie o condiţie *sine qua non* pentru formarea acestor plăci.

Care sînt particularităţile stresului hemodinamic cu potenţialităţi aterogene, considerat de anumiţi autori ca singurul agent etiologic al aterosclerozei umane cunoscut la ora actuală?

O primă teorie elaborată pe baza metodelor moderne de investigaţie, „teoria hemodinamică a aterosclerozei" (TEXON 1960 a, b, 1974), implică drept principal mecanism aterogen sucţiunea exercitată asupra peretelui arterial de coloana de sînge în mişcare. Cu cît viteza acestei coloane este mai mare, cu atît ar apare mai evidentă o presiune negativă între endoteliu şi masa sanguină, presiune care ar „aspira" către lumen structurile deformabile ale peretelui arterial. Cînd acest perete este fixat de ţesuturile din jur prin colaterale şi / sau aderenţe adventiceale, „aspiraţia" atinge intensitatea maximă şi în aceste zone ar lua naştere plăcile. Factorii de risc ar acţiona după ce plăcile s-au format, potenţînd evoluţia lor spre forme complicate. În lumina acestei teorii, ateroscleroza nu poate fi prevenită decît acţionînd asupra stresurilor cu carater aterogen. În acest sens se utilizează experimental variate tipuri de polimeri ce se întind pe suprafaţa endotelială modificînd interrelaţiile dintre

Scanned with OKEN Scanner

endoteliu şi coloana de sînge în mişcare. Rolul aterogen al sucţiunii (TEXON 1960 a, b, 1974) nu a găsit o largă acceptare deoarece existenţa unei presiuni negative între endoteliu şi coloana de sînge în mişcare nu a putut fi demonstrată prin metode obiective. În consecinţă, în explicarea rolului aterogen al stresurilor hemodinamice marea majoritate a autorilor pun astăzi pe primul plan *efectele erozive ale acestor stresuri asupra endoteliului şi zonei subendoteliale.*

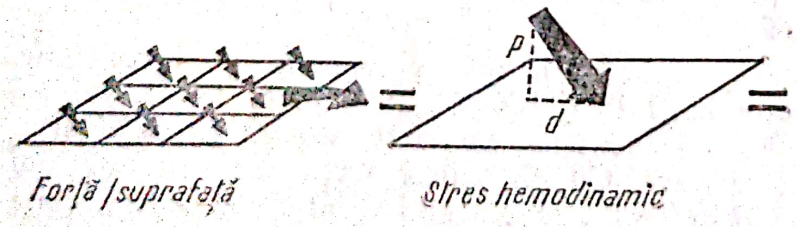
2. FORŢE HEMODINAMICE CU POTENŢIALITĂŢI ATEROGENE

Se cunosc două căi principale prin intermediul cărora stresurile hemodinamice pot modifica microarhitectura şi organizarea macromoleculară a peretelui arterial: I) *afectarea mecanică;* II) *vehicularea componentelor plasmatice.* Vasul se adaptează la aceste stresuri prin *modificări de ordin structural* sau/şi *modificări de permeabilitate.*

Cel mai important rol din punct de vedere al etiopatogeniei aterosclerozei pare a fi jucat de afectarea mecanică a suprafeţei endoteliale. Agresiunile cu caracter aterogen provin atît din *frecarea* produsă de coloana de sînge în mişcare, cît şi din *distensia* produsă de această coloană, distensie ce ţine vasul necolabat.

Principalul stres rezultat din frecarea coloanei de sînge în mişcare cu suprafaţa endotelială este denumit *stres de dragare;* el tinde să deformeze vasul în direcţie longitudinală şi are cel mai puternic caracter eroziv. Stresurile rezultînd din distensia lumenului arterei deformează vasul radial (perpendicular pe axul longitudinal) şi circumferenţial, acţionînd aterogen în special prin mărirea permeabilităţii endoteliale. Fiecare din aceste stresuri poate fi prezentat schematic ca o forţă exercitată pe unitatea de suprafaţă endotelială, aşa cum sugerează fig. 1.

În arterele mari şi mijlocii, scurgerea sîngelui are un caracter laminar, schematizat în fig. 2. Coloana de sînge în mişcare este alcătuită din mai multe lame concentrice ce apar pe secţiune transversală similare cercurilor din trunchiul unui copac. Aceste lame concentrice alunecă una peste alta cu viteze diferite, cea mai mare viteză fiind la nivelul curentului axial (săgeata cea mai groasă în fig. 2), iar cea mai mică la nivelul lamei care alunecă pe suprafaţa



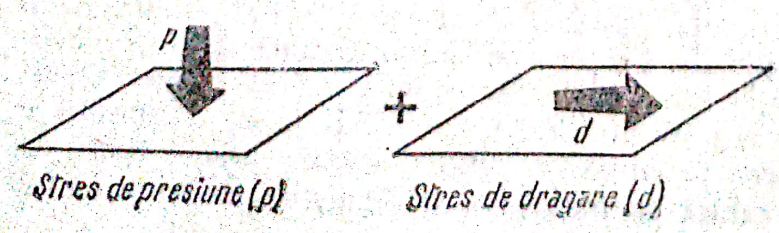


Fig. 1 — Diagramă reprezentînd stresul hemodinamic ca o forţă exercitată pe unitatea de suprafaţă. Această forţă include atît stresul de presiune (p) ce destinde vasul radial şi circumferenţial, cît şi stresul de dragare (d) ce îl întinde în direcţie longitudinală (după FRY 1976, cu permisiunea editurii Raven Press, New York).

Scanned with OKEN Scanner

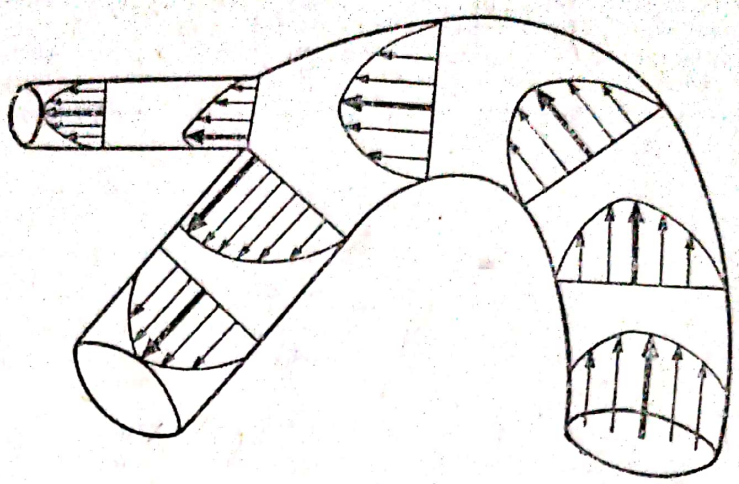


Fig. 2 — Scurgerea laminară a coloanei de sînge prin lumenul arterelor. Lama centrală (săgeata cea mai groasă) are viteza cea mai mare, iar lama periferică viteza cea mai mică. În zonele de emergență lama centrală devine periferică, creînd un puternic stres de dragare pe fața internă a unghiului de ramificație, producînd eroziuni endoteliale și favorizînd astfel dezvoltarea plăcilor ateroscleroticе.

endotelială. Diferența de viteză între lama centrală și cea periferică poate atinge, în aortă, valori pînă la 100/1, explicată în parte prin frecarea lamei periferice de suprafața endotelială. Prin această frecare se transmite endoteliului și zonei subendoteliale o parte din energia inițială de înaintare a lamei periferice, precum și din energia pe care o primește de la lama de sînge adiacentă. Suprafața endotelială înregistrează intensitatea energiei transmisă de stresul de dragare prin intermediul unor receptori filiformi, cu aspect de cili, care pătrund în lama periferică a coloanei de sînge în mișcare. În fiecare segment vascular se stabilește un echilibru labil dar adecvat între peretele arterial și coloana de sînge, echilibru care persistă atîta timp cît viteza de înaintare și viscozitatea sîngelui nu se modifică semnificativ. Cînd nevoile de oxigenare ale miocardului impun un debit coronarian crescut, viteza de scurgere a coloanei sanguine în arterele coronare crește și odată cu ea și intensitatea frecării de suprafața endotelială. Echilibrul menționat mai sus este rupt și celulele musculare netede din medie se relaxează, mărind lumenul vasului. Această dilatare a diametrului arterei este cu atît mai mare cu cît viteza de scurgere a coloanei sanguine a crescut mai mult și stresul de dragare devine implicit mai nociv pentru integritatea endoteliului. În condiții experimentale, lumenul vasului se mărește pînă la restabilirea echilibrului dintre endoteliu și stresul de dragare existent înaintea creșterii debitului sanguin. Dacă debitul într-o arteră scade, viteza coloanei de sînge se reduce și odată cu ea și intensitatea stresului de dragare. Răspunsul la aceste condiții noi este contracția celulelor musculare din media arterei cu reducerea lumenului și revenirea la normal a vitezei de scurgere a coloanei de sînge. Aceste adaptări ale debitului local la nevoile diverselor organe și țesuturi se fac fără modificări structurale și fără intervenția sistemului nervos, intrînd în joc doar variațiile de tonus ale celulelor musculare din media vasului. Fig. 3 schematizează datele menționate. Dacă modificările de debit sînt de lungă durată, artera se adaptează prin remodelări structurale, în locul dilatației lumenului prin reducerea tonusului muscular apărînd în timp o dilatație anatomică. Tot prin remodelare structurală contracția prelungită cu reducerea diametrului lumenului este înlocuită prin îngroșarea difuză a intimei.

Experimental, ligaturile parțiale care diminuă debitul și implicit intensitatea dragării suprafeței endoteliale sînt urmate de îngroșări intimale, îngroșări cu atît mai severe cu cît ligatura a fost mai strînsă. Prin prisma acestei relații dintre debit, stres de dragare și capacitatea de remodelare a peretelui arterial, s-ar putea explica îngroșarea progresivă a intimei

Scanned with OKEN Scanner

în vase ce își reduc în mod fiziologic debitul în cursul anumitor perioade ale evoluției ontogenetice (de exemplu perioada involuției canalului arterial). Prin același mecanism s-ar putea explica obstruarea progresivă a anumitor *by-pass*-uri aorto-coronariene atunci cînd debitul în vena grefată scade sub 40 ml sînge pe minut la capătul distal al grefei, respectiv la mai puțin de jumătate din debitul grefei normale. În sfîrșit, același mecanism a fost sugerat și în

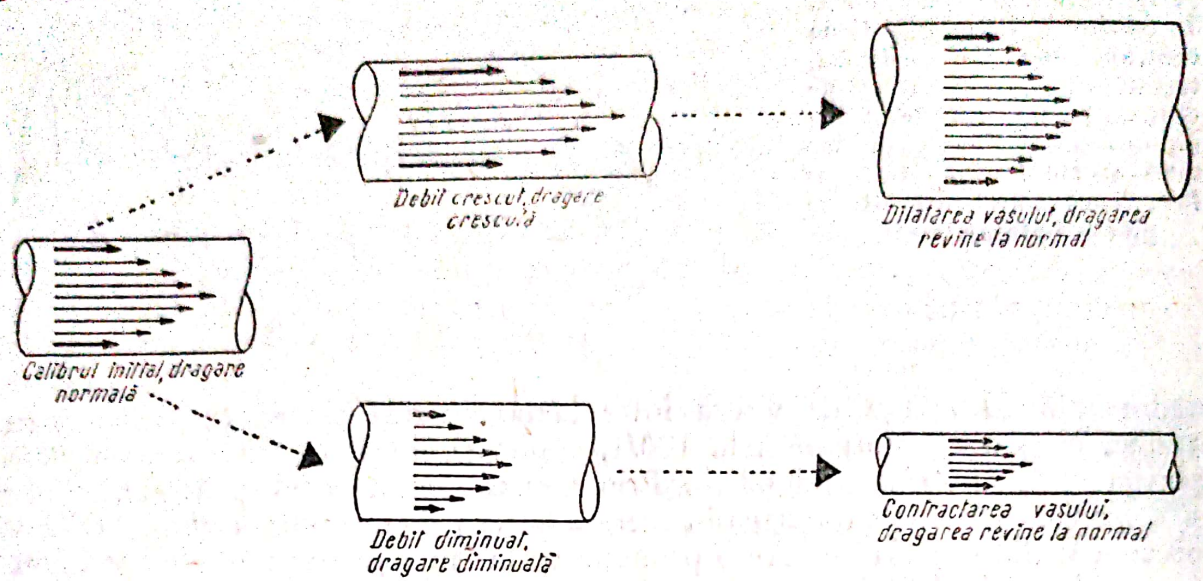


Fig. 3 — Interrelațiile debit sanguin — stres de dragare — tonusul peretelui arterial. *Stînga*: aspectul normal al *patern*-ului de scurgere într-un segment rectiliniu, avînd curentul axial (săgeata cea mai lungă) cel mai rapid și curentul marginal (săgeata cea mai scurtă), cel mai lent. Intensitatea stresului de dragare menține un tonus adecvat debitului local. *Centru sus*: creșterea debitului și implicit a vitezei coloanei sanguine mărește intensitatea stresului de dragare și agresiunea exercitată asupra endoteliului. *Dreapta sus*: vasul se adaptează prin dilatarea lumenului, rezultînd diminuarea intensității dragării pînă se revine la limitele fiziologice. *Centru jos*: Scăderea debitului și implicit a vitezei coloanei sanguine este urmată și de diminuarea dragării pe suprafața endotelială. *Dreapta jos*: vasul se adaptează prin contracția celulelor musculare, rezultînd diminuarea lumenului, creșterea vitezei curentului sanguin și a intensității dragării pînă se ajunge din nou la limitele fiziologice (după RODBARD 1974, cu permisiunea editurii Springer, Berlin).

patogenia unor trombangeite obliterante, alterarea primară fiind predominanța de tonus simpatic și vasoconstricția prelungită a vaselor periferice. Rezistența periferică mărită reduce debitul în artere, debitul redus diminuă dragarea pe suprafața endotelială și această dragare redusă induce după o anumită perioadă de timp proliferarea intimei și apariția procesului proliferator cu caracter patologic. S-ar mai putea explica, prin același mecanism, de ce stenozele arteriale, scăzînd debitul sanguin în *aval* de stenoză, diminuă considerabil stresul de dragare stimulînd proliferarea intimală compensatorie. Rezultă o îngroșare a intimei de la stenoză spre segmentul distal al arterei stenozate, ce reduce și mai mult lamenul vasului, consecințele pe plan local putînd fi ischemia și infarctul.

Caracterul aterogen al stresului de dragare pare a rezulta din capacitatea acestui stres de a produce alterarea, descuamarea, necroza și eroziunea endoteliului, precum și a zonei subendoteliale.

Endoscopia tubului digestiv, larg practicată în cursul ultimelor decenii, a permis să se descopere cu o frecvență neașteptată ulcerații superficiale ale mucoasei, aparent reversibile, cu implicații multiple în patologie. Studiul suprafeței endoteliale efectuat în cursul ultimilor ani cu ajutorul microscopului electronic cu baleiaj și transmitere dinamică a imaginilor, a evidențiat existența unor ulcerații „spontane" și pe suprafața peretelui arterial. Ele sînt prezente în zonele unde stresul de dragare acționează cu intensitate maximă: bifurcațiile, punctele de emergență, curburile, locurile de schimbare bruscă a geometriei

Scanned with OKEN Scanner

vasului. În timp ce stresurile în direcţie radială şi circumferenţială se exercită cu intensităţi relativ constante de-a lungul unui ciclu cardiac, stresul de dragare îşi modifică considerabil intensitatea atît cu ciclul cardiac cît şi cu schimbările locale de calibru, direcţie şi microarhitectură a peretelui arterial. Exemplul cel mai elocvent îl reprezintă zonele de bifurcaţie şi emergenţă, unde, datorită trecerii unei părţi a coloanei de sînge în ramura fiică, apare o deplasare a lamelor coloanei. Aşa cum sugerează fig. 2, lama centrală, cu viteza cea mai mare, poate deveni în segmentul paraostial al ramurii fiice lamă periferică ce exercită acţiune de dragare. Avînd însă viteză foarte mare, frecarea suprafeţei endoteliale este deosebit de puternică, ceea ce explică apariţia cu predilecţie a eroziunilor în zona menţionată şi apariţia cu predilecţie în aceeaşi zonă, a plăcilor aterosclerotice.

În condiţii experimentale, ridicarea valorilor stresului de dragare, de la normalul de 100—200 dine/cm² suprafaţă endotelială la 400 dine/cm² suprafaţă endotelială a fost urmată de apariţia eroziunilor (FRY 1973). În afara apariţiei eroziunilor, stresul de dragare intensificat măreşte permeabilitatea endoteliului pentru lipoproteine şi fibrinogen. În zonele unde microarhitectura peretelui arterial are o stabilitate structurală deficitară, acest stres poate da naştere la fisuri. Fisurile au fost frecvent observate la periferia plăcilor aterosclerotice cu centru necrotic, fiind implicate în producerea trombozelor cu caracter obstructiv (FRIEDMAN 1971). Efectul aterogen al stresului de dragare se intensifică şi odată cu apariţia unui flux turbulent, cînd circulaţia laminară este înlocuită printr-o scurgere în vîrtejuri (fig. 4). Vîrtejurile induc amestecul diferitelor lame componente ale coloanei de sînge în mişcare, cu producerea de căldură datorită frecării componentelor acestor lame, precum şi cu apariţia de vibraţii. Suprafeţele endoteliale ce vin în contact cu scurgeri turbulente prezintă o creştere considerabilă a permeabilităţii şi o tendinţă la dispoziţie anarhică a celulelor şi fibrelor din zona subendotelială. Vibraţiilor produse de turbulenţe li s-a atribuit şi capacitatea de a relaxa tonusul celulelor musculare din medie, rezultînd dilatări anormale ale lumenului vasului. Aceste

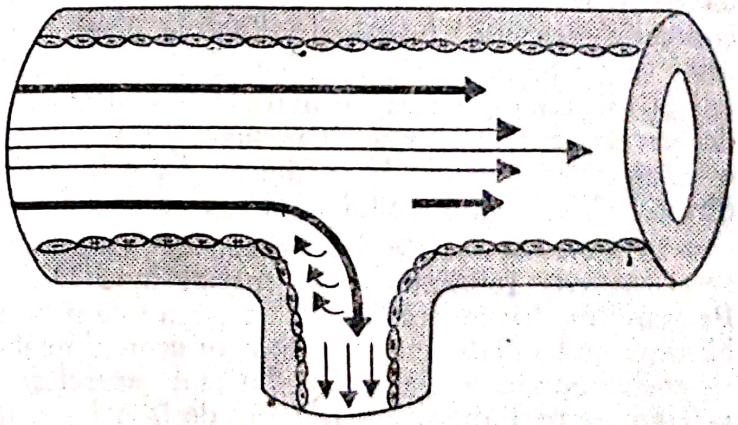


Fig. 4 — Apariţia turbulenţelor la nivelul unei emergenţe. Înlocuirea scurgerii laminare a coloanei de sînge prin scurgeri turbulente reprezintă un factor favorizant în dezvoltarea plăcilor aterosclerotice.

vibraţii ar mai avea şi acţiuni de diminuare a stabilităţii structurale a fibrelor din peretele arterial ca urmare a desfacerii anumitor legături intermoleculare (STEHBENS 1977).

Datele prezentate sînt departe de a epuiza modul complex în care stresurile hemodinamice intervin în etiopatogenia aterosclerozei, studiile în acest domeniu fiind încă limitate de dificultăţi de ordin metodologic.

Scanned with OKEN Scanner

3. MODIFICĂRI CELULARE INDUSE DE FACTORI HEMODINAMICI

a. CELULELE ENDOTELIALE

Endoteliul reprezintă o barieră celulară specializată a peretelui vascular, ce se interpune între acest perete şi sîngele circulant. El separă astfel substanţele cu acţiune anticoagulantă din plasmă de cele cu acţiune procoagulantă prezente în intima arterelor. Bariera endotelială a arterelor mari şi mijlocii este greu permeabilă, permiţînd trecerea substanţelor cu greutate moleculară mică şi medie şi oprind trecerea macromoleculelor.

Ancorat prin mici filamente de structurile conjunctive subiacente, endoteliul este adaptat să reziste atît la distensiile ritmice ale undei pulsatile, cît şi la stresul de dragare al coloanei de sînge în mişcare. Pe baza observaţiilor efectuate la microscopul electronic, s-a sugerat existenţa unei „articulaţii" endotelio-subendoteliale, dotată cu o mare flexibilitate şi adaptată distribuirii uniforme, pe întreaga suprafaţă a arterei, a presiunii ce se exercită dinspre lumenul vasului (TS' AO şi GLAGOV 1970). Filamentele care leagă celulele endoteliale de structurile fibrilare ale zonei subendoteliale ar juca în parte rolul membranei bazale, care lipseşte în endoteliul arterelor. Aceste filamente apar deosebit de rezistente atît la stresurile mecanice, cît şi la degradări chimice şi enzimatice.

Factorii hemodinamici pot produce două tipuri principale de modificări endoteliale, ambele potenţial aterogene: I) *creşterea permeabilităţii*, rezultînd pătrunderea masivă în intimă a lipoproteinelor şi fibrinogenului din plasmă; II) *alterări structurale*, apărînd sub aspectul descuamărilor, necrozei şi eroziunilor, toate favorizînd agregările trombocitelor şi formarea reţelelor de fibrină.

În condiţiile existenţei unui stres unidirecţional, marea majoritate a celulelor endoteliale apar orientate cu axul longitudinal în direcţia în care se exercită stresul. Dacă se inversează experimental direcţia de scurgere a coloanei de sînge, această inversare este urmată de rearanjarea celulelor endoteliale cu axul lor longitudinal în direcţia noului sens dominant al stresului de dragare. Dacă se revine la direcţia iniţială de scurgere, celulele endoteliale îşi reiau vechea orintare (FRY 1973). Aceste schimbări au loc în decurs de săptămîni sau chiar luni; pentru a apare şi persista este necesară o anumită constanţă în acţiunea factorilor hemodinamici şi mai ales în direcţia exercitării stresului de dragare.

Efectele stresurilor hemodinamice asupra permeabilităţii endoteliale au fost urmărite folosindu-se în special injectarea colorantului albastru Evans. Perfuzat *in situ* la presiune şi oxigenare controlate, el indică mărirea permeabilităţii endoteliale sub acţiunea tuturor tipurilor de stres. S-au putut face şi unele aprecieri calitative, stresul exercitat în direcţie circumferenţială mărind permeabilitatea mai mult decît cel ce întinde vasul în sens longitudinal (CAREW şi PATEL 1973). *Patern*-urile de colorare cu albastru Evans ale zonei subendoteliale ale aortei pot varia de la un animal la altul dar prezintă anumite particularităţi de specie pe baza cărora se pot alcătui adevărate hărţi. În linii mari, regiunile cu permeabilitatea crescută la toate speciile investigate sînt, la nivelul aortei: zona internă a arcului, sinusurile Valsalva, zonele de emergenţă ale arterelor ce irigă cutia craniană şi membrele superioare, precum şi zonele de emergenţă ale intercostalelor. Aceste

Scanned with OKEN Scanner

regiuni sînt considerate a fi supuse celor mai intense stresuri hemodinamice (FRIEDMAN şi BYERS 1963; CHIŞU şi colab. 1964; KLYNSTRA şi BOTTCHER 1970; JØRGENSEN şi colab. 1972; FRY 1973; CORNHILL şi ROACH 1976; FRY 1976).

Utilizarea microscopiei electronice cu baleiaj a permis evidenţierea unor importante deosebiri între dispoziţia şi aspectul celulelor endoteliale din zonele supuse la stresuri hemodinamice intense şi puţin intense. În punctele de bifurcaţii şi de emergenţe, dispoziţia celulelor endoteliale pare haotică, aşa cum sugerează fig. 5. Numeroase elemente apar balonate, distorsionate sau chiar necrozate, rezultînd descuamări şi formarea de mici cratere superficiale. Aceste ulceraţii spontane, destul de frecvent întîlnite în condiţii considerate fiziologice, reprezintă zone în care sîngele circulant vine în contact direct cu ţesutul conjunctiv al intimei. S-a mai constatat că aceste ulceraţii superficiale, induse în special de stresuri de dragare intensificate, se asociază cu proliferări nodulare ale celulelor migrate din medie în intima arterelor, proliferări ce alcătuiesc un baraj în dreptul zonei denudate. Se formează astfel o pseudobarieră care reface permeabilitatea alterată a suprafeţei endoteliale, fiind uneori chiar mai puţin permeabilă decît endoteliul însuşi. Această pseudo-barieră pare însă a reprezenta un punct de atracţie pentru trombocite care aderă pe suprafaţa ei, prezentînd şi aspecte de degranulare. Tot la acest nivel se produc şi polimerizări masive ale macromoleculelor de fibrină, cu apariţia de reţele ce includ, între ochiurile lor, trombocitele agregate. Astfel se formează microtrombi ce sînt frecvent dislocaţi de coloana sanguină în mişcare, se refac şi din nou sînt îndepărtaţi, putînd constitui o sursă de embolii în arterele mici şi arteriole. Dacă aderenţa microtrombusului este mai fermă, rezistînd acţiunii de dislocare a stresului de dragare, atunci se produce fie organizarea intraluminală a respectivului tromb, fie includerea lui ulterioară în grosimea intimei. Acest ultim proces are loc în special cînd reendotelializarea zonei erodate se face cu ascensiunea

Fig. 5 —Aspectul suprafeţei luminale a aortei, evidenţiat prin microscopia cu baleiaj. Imaginea de sus prezintă endoteliul într-un segment rectiliniu, cu numeroase protruziuni ale nucleilor (N), cu o dispoziţie celulară ordonată şi marginile celulare (săgeţi) net delimitate. Imaginea de jos include tot un endoteliu normal, dar situat într-o zonă de emergenţă. Se pot observa descuamări cu aspect crateriform (C), dispoziţia aparent haotică a celulelor, marginile celulare slab delimitate. În anumite puncte, indicate de săgeţi, ţesutul conjunctiv subendotelial vine în contact direct cu coloana de sînge în mişcare (după NELSON, GERTZ, PENNELS, FORBES şi BLAUMAINS 1976, cu permisiunea editurii Raven Press, New York).

endoteliului de neoformație peste excrescența reprezentată de microtromb. S-a constatat că după reendotelializare, proliferarea celulelor musculare din intimă își reduce intensitatea, dar intima rămîne îngroșată (SCHWARTZ și colab. 1975). Această îngroșare persistă mai ales în reendotelializările incomplete, particulare zonelor cu intensitate mare a stresului de dragare, cum sînt punctele de bifurcație și de emergență. Dimpotrivă, în traiectele rectilinii ale arterelor, dintre aceste puncte, celulele endoteliale par dispuse regulat, cu axul longitudinal în sensul curentului sanguin, iar la examenul microscopic prezintă foarte rar alterări structurale.

După cum am mai menționat, stresul de dragare este capabil să afecteze nu numai suprafața endotelială, ci și zona subendotelială a intimelor îngroșate. În anumite artere, intensificarea experimentală a acțiunii acestui stres (de exemplu prin crearea de șunturi arterio-venoase care măresc viteza de scurgere a coloanei sanguine), a fost urmată de dezvoltarea unui țesut subendotelial extrem de bogat în fibre. Din punct de vedere structural ca elemente dominante au apărut fibrele de colagen, orientate paralel în direcție longitudinală, direcție în care se exercită stresul de dragare. Dacă animalele respective erau supuse la diete bogate în colesterol, s-a constatat o permeabilitate endotelială redusă și absența apariției leziunilor. În alte artere, răspunsul la stresul de dragare intensificat a fost diferit. În locul fibrelor de colagen orientate longitudinal, zona subendotelială a prezentat acumulări masive de substanță fundamentală și fibre subțiri, cu dispoziția anarhică. În aceste vase permeabilitatea endotelială a fost crescută, animalele supuse la diete bogate în colesterol prezentînd depuneri rapide de lipide și formarea de leziuni de ateroscleroză experimentală. Primul tip de remodelare la stresul de dragare intensificat a apărut în artera carotidă, al doilea tip, cu caracter aterogen, în artera femurală. Întrucît stresul de dragare a fost de 45 dine/cm² de suprafață endotelială în artera carotidă și 32,6 dine/cm² în artera femurală, diferențele menționate nu pot fi atribuite intensității mai mari a stresului în arterele ce au prezentat susceptibilitate la ateroscleroză. Se poate implica numai o reactivitate particulară genetic transmisă a endoteliului și zonei subendotelial din fiecare teritoriu arterial (FRY 1973, 1976). Aceasta ar explica și de ce la om, în condițiile unei acțiuni similare a stresului de dragare, vase ca artera radială, cubitală sau mamară internă fac extrem de rar leziuni de ateroscleroză în comparația cu arterele coronare, cerebrale, renale sau femurale.

Tot experimental s-a constatat că relațiile dintre intensitatea stresului hemodinamic și permeabilitatea endoteliului variază în funcție de valorile presiunii intraluminale. La șobolan, creșterea acestei presiuni de la 100–120 la 220 mm Hg a mărit considerabil permeabilitatea barierei endoteliale pentru macromolecule de tipul lipoproteinelor și fibrinogenului. La presiuni sistolice între 80 și 220 mm Hg trecerea acestor macromolecule prin endoteliu a crescut paralel cu valorile tensiunii arteriale, iar sub 80 mm Hg s-a produs o scădere a permeabilității endoteliale. Creșterea permeabilității la presiuni sistolice ridicate s-a însoțit și de o intensificare a transportului transendotelial prin intermediul veziculelor de pinocitoză (HUTTNER și colab. 1973).

b. CELULELE MUSCULARE

Examenul microscopic de rutină al arterelor mari și mijlocii impresionează prin marea diversitate structurală a arhitecturii intimei. Într-un fragment de arteră domină bogăția în țesut elastic, în alt fragment bogăția în țesut muscular, în altul apar mai numeroase fibrele de colagen sau acumulările de substanță fundamentală. La baza acestor adaptări structurale atît de variate există mecanisme *feedback* negative, prin intermediul cărora celula musculară remodelează peretele arterial în funcție de particularitățile locale ale stresurilor hemodinamice (RODBARD 1974). „Mesajul" acestor stresuri este recepționat de celulă care sintetizează predominant elastină, colagen, miozină sau mucopolizaharide acide, adaptînd vasul condițiilor mecanice respective.

În zonele în care predomină forțele de tracțiune induse de coloana de sînge în mișcare, ce întind vasul în direcție longitudinală și îl destind circum-

Scanned with OKEN Scanner

ferențial, celula musculară netedă elaborează mari cantități de macromolecule de colagen. Agregate în fibrile, orientate atît longitudinal cît și circular, ele preiau răspunsul la forțele ce întind vasul; fiind inextensibile, aceste fibre de colagen limitează întinderea arterei. Cînd rezistența lor a devenit eficientă, sinteza de macromolecule de colagen se reduce considerabil chiar în prezența unor stresuri hemodinamice puternice, întrucît celulele nu mai re-

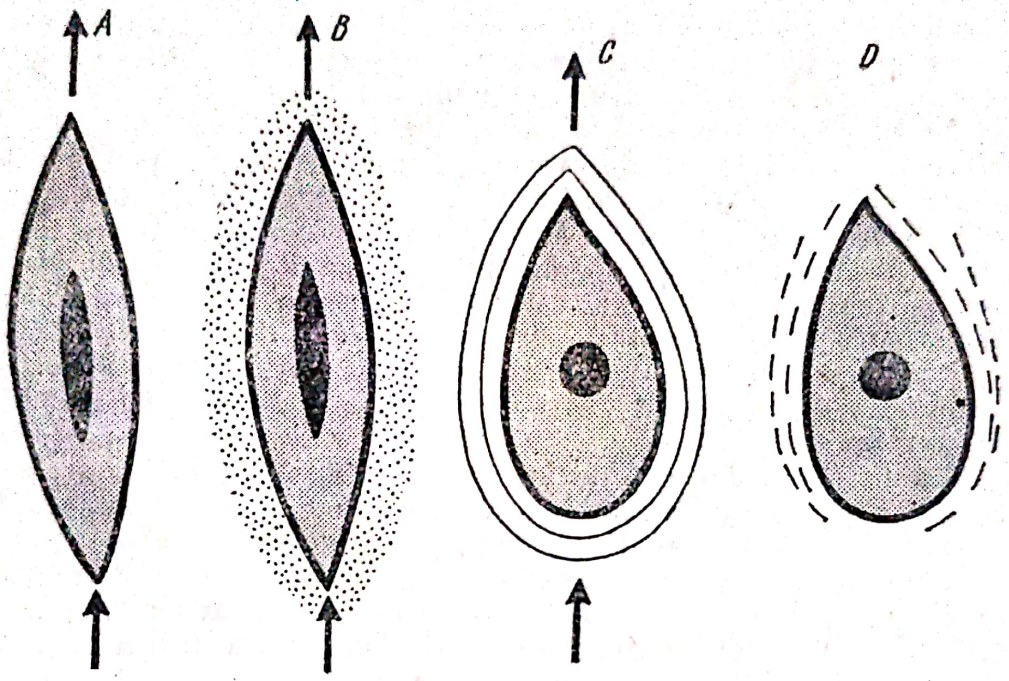


Fig. 6 — Interrelație celulă musculară din artere — stres hemodinamic, conform ipotezei lui RODBARD (1974). Tracțiunea mecanică în sens longitudinal (A), indusă de coloana de sînge în mișcare este înregistrată de celula musculară netedă care se orientează cu axul longitudinal în direcția stresului dominant. Dacă stresul este puternic și de lungă durată, celula sintetizează numeroase macromolecule de colagen care se răspîndesc în spațiul pericelular (B). Aceste macromolecule agregă în fibrile care preiau răspunsul la stresul hemodinamic și fiind inextensibile, feresc celula de agresiunea mecanică din A, apărînd modificări ale diametrului celulei (C). Dacă stresul dispare sau își reduce intensitatea, celula eliberează enzime lizozomale care degradează fibrele de colagen rămase în exces față de solicitările mecanice locale (D).

ceptionează stresul hemodinamic din cauza fibrelor de colagen inextensibile din jurul lor, așa cum sugerează fig. 6. Dacă intensitatea stresurilor hemodinamice se reduce și persistă ca atare pe perioade mai lungi de timp, celula musculară eliberează enzime lizozomale cu acțiune colagenolitică, așa încît rămîn un număr mic de fibre de colagen, cîte sînt necesare asigurării unei rezistențe optime pentru zona respectivă. Alterarea acestui mecanism *feedback* negativ poate avea ca urmări: I) absența sintezei de macromolecule de colagen spre a forma fibrele necesare preluării răspunsului la tracțiune, rezultînd fisurări sau/și dilatații anevrismale ale peretelui arterial; II) sinteză excesivă, peste nevoile locale, rezultînd un țesut de fibroză densă de tipul celui frecvent întîlnit în plăcile aterosclerotice.

În zonele în care predomină distensia ritmică produsă de trecerea undei pulsatile, apar, în peretele arterial schimbări de tensiune în cursul fiecărui ciclu cardiac. Rata acestor schimbări, recepționată de celula musculară netedă, pare a fi stimulul necesar sintezei crescute de macromolecule de elastină. Ali-

Scanned with OKEN Scanner

nierea lor în fibre, lame și limitante, creează structuri apte să amortizeze distensiile undei pulsatile, transformînd în parte forța lor oscilantă într-o forță continuă. Aceasta din urmă nu mai este recepționată ca un stimul traumatizant de către celula musculară netedă, sinteza masivă de macromolecule de elastină diminuînd cînd structurile elastice neoformate preiau răspunsul la distensiile ritmice ale undei pulsatile. În lumina acestei ipoteze s-ar putea explica dezvoltarea abundentă a țesutului elastic în segmentul proximal al aortei, incluzînd arcul și zona toracică, unde se produc distensiile maxime în momentul expulzării conținutului ventricular în lumenul aortei. Prezența țesutului elastic permite revenirea diametrului vasului la dimensiunile inițiale cînd forța de distensie a încetat, asigurînd în același timp propulsarea coloanei de sînge spre arterele periferice. În artera carotidă, țesutul elastic este puternic dezvoltat în segmentul proximal și slab dezvoltat în cel intermediar, intraosos, unde distensia indusă de unda pulsatilă este limitată de inextensibilitatea cutiei craniene. Experimental, așa cum am mai menționat, s-a putut demonstra că înfășurarea segmentului proximal al carotidei interne cu fești de material plastic este urmată de o reducere considerabilă a numărului de lame elastice (RODBARD și colab. 1962; RODBARD 1974). Această reducere se poate explica prin diminuarea distensiei indusă de unda pulsatilă datorită învelișului rigid periarterial creat experimental.

Dacă schimbările de presiune intraluminală nu mai păstrează caracterul ritmic, legat de succesiunea sistolă-diastolă, ci apar brusc, legate de nevoile creșterii masive locale a debitului sanguin, celula musculară se adaptează prin înmulțirea structurilor dotate cu aparat contractil. Se produce astfel o mărire a tonusului muscular al vasului care poate fi rapid adaptat nevoilor locale de debit. În astfel de condiții arterele prezintă o îngroșare a mediei musculare și o creștere a numărului de miofibrile în fiecare celulă.

Nu se cunoaște încă tipul de stres hemodinamic care stimulează formarea unei mari cantități de mucopolizaharide acide în zona subendotelială.

S-a sugerat că în arterele mari și mijlocii, de tipul aortei, arterei subclaviculare, arterei carotide, arterelor iliace și arterei femurale, ar exista „unități" structurale și funcționale. Alcătuite din fibre elastice, fibre de colagen și celule musculare netede, aceste „unități" includ în centru o celulă ce se inseră la cei doi poli pe lame elastice, iar în jurul ei sînt dispuse în spirală fibre de colagen. Aspectul electrono-microscopic al aortei conținînd aceste „unități" este prezentat în fig. 7. Fiecare „unitate" ar răspunde la stresurile hemodinamice prin tonusul celulei musculare centrale, prin elasticitatea lamelor pe care se inseră aceste celule și prin extensibilitatea redusă a fibrelor de colagen. În condiții fiziologice „unitățile" peretelui arterial ar asigura o distribuție egală a efectelor mecanice produse de stresurile hemodinamice în variate zone ale arterelor și ar fi capabile să amortizeze creșterile sau scăderile bruște ale presiunii intraluminale (ROACH și BURTON 1959).

În sfîrșit, s-a mai sugerat că există condiții limită cînd celula nu poate răspunde la stresurile hemodinamice prin sinteza unui anumit tip de macromolecule sau prin neoformare de miofibrile. În astfel de condiții procesele secretorii sînt inhibate și celula se divide, mărind numărul de elemente apte a participa la remodelarea peretelui arterial (RODBARD 1974).

4. VARIABILITATEA ADAPTĂRII STRUCTURALE A ARTERELOR

În rîndurile care urmează vom descrie remodelările peretelui arterial corelate cu vîrsta, sub acțiunea stresurilor hemodinamice din trei teritorii arteriale intens susceptibile la ateroscleroză: arterele coronare, arterele cerebrale și aorta.

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 7—Aspect electronomicroscopic al microarhitecturii unei artere de tip elastic. Celulele musculare (SM) sînt dispuse între lamele elastice (E) de care sînt atașate, formînd unități morfofuncționale. Între celulele musculare sînt prezente numeroase fibre de colagen (C) și elastice (E) · ×6000, prin bunăvoința prof. S.Y. YU.

Scanned with OKEN Scanner

Remodelarea peretelui ramurilor principale ale arterelor coronare (trunchiul comun al coronarei stîngi, descendenta anterioară, circumflexa şi artera coronară dreaptă), poate fi observată la microscop începînd din luna a 4-a a vieţii intrauterine. Această remodelare include migrarea anumitor celule mus-

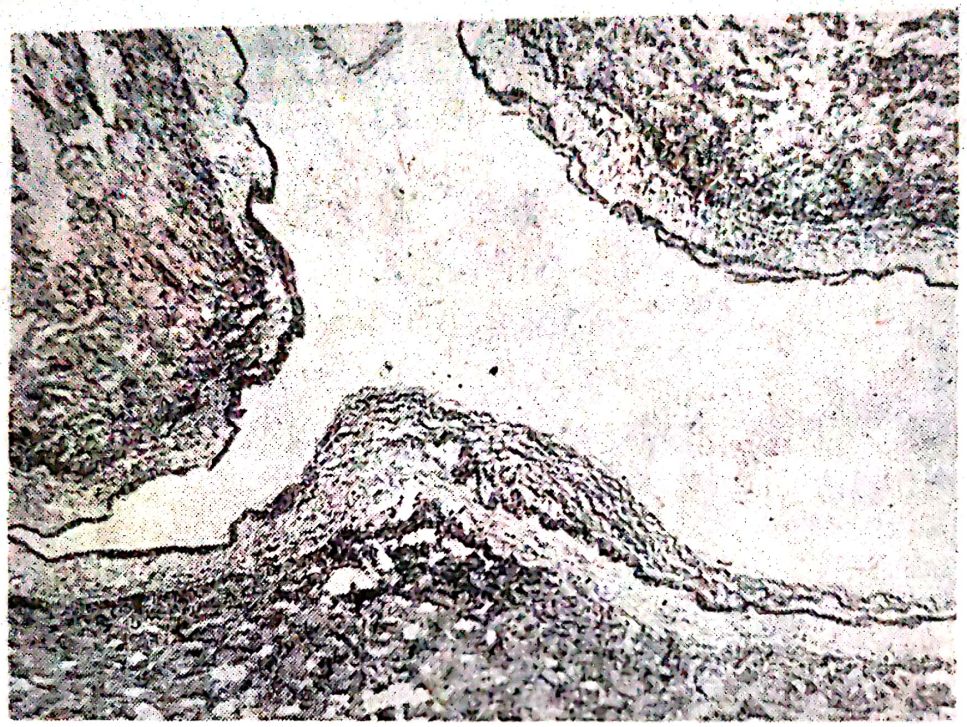


Fig. 8 —**Bifurcaţia trunchiului comun al arterei coronare stîngi la un făt de 4—5 luni. Apariţia primelor zone de întreruperi ale limitantei elastice interne, de reduplicare şi de neoformare de fibre elastice, dînd naştere primelor focare de îngroşări intimale. Fucselină Weigert — albastru alcian, ×70.**

culare netede ale mediei spre zona subendotelială, asociată cu o degradare a limitantei elastice interne în zona respectivă. Celulele migrate subendotelial dau naştere unui ţesut conjunctiv intimal bogat în fibre elastice, fibre de colagen şi substanţă fundamentală, apărînd sub aspectul unor perniţe situate în punctele de emergenţă (fig. 8). La nivelul emergenţei arterei descendente anterioare numărul acestor perniţe variază între 3 şi 4, iar la nivelul emergenţelor ramurilor mai mici între 1 şi 3. Din fuzionarea acestor perniţe intimale rezultă o intimă difuz îngroşată ce căptuşeşte mai întîi zona de emergenţă, întinzîndu-se apoi şi în afara ei. Această progresiune în direcţia centrifugă a intimei îngroşate este evidentă în special în segmentul proximal al arterelor descendentă anterioară şi circumflexă. În materialul analizat de noi, 22% dintre nou născuţi au prezentat o intimă difuz îngroşată în segmentul proximal al arterei descendente anterioare, iar la 5% dintre ei această grosime depăşea 150 μ, intima apărînd pe secţiunile microscopice mai groasă decît media (fig. 9). Tabelul I sintetizează rezultatele studiilor noastre în acest domeniu, putîndu-se constata, printre altele, o creştere de 11 ori a grosimei intimei între fătul de 5 luni şi copilul de 1 an. Tabelul I evidenţiază, de asemenea, că începînd de la vîrsta de 1 an, în segmentul proximal al arterei descendentă anterioară intima poate deveni mai groasă decît media subiacentă, concluzie ce rezultă şi din evoluţia raportului intimă / medie.

Scanned with OKEN Scanner

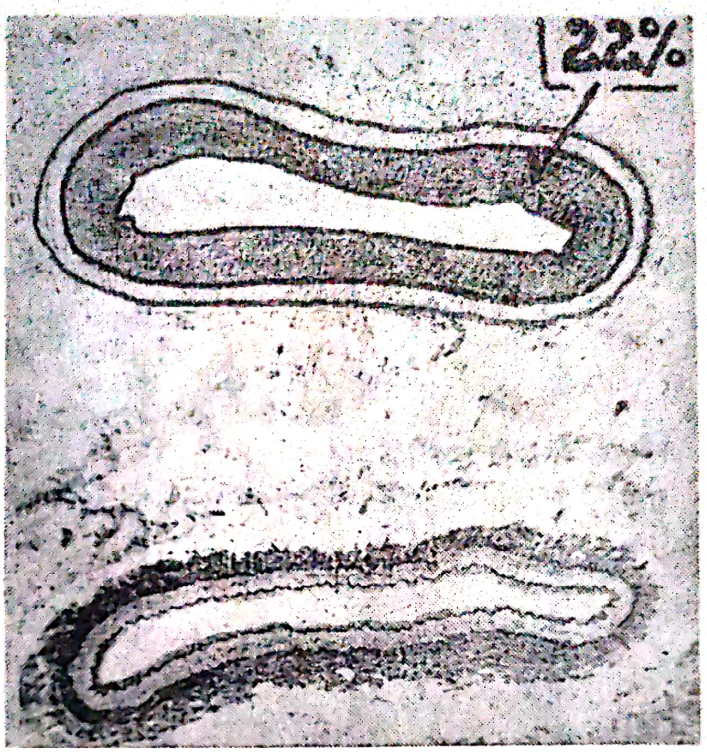


Fig. 9 — Aspect comparativ al unei artere coronare de nou născut cu (sus) şi fără (jos) îngroşare intimală. În materialul examinat de noi, 22 % dintre nou-născuţi au prezentat variate grade de îngroşări intimale în segmentul proximal al arterelor descendentă anterioară şi circumflexă. Fucselină Weigert — albastru alcian × 54.

TABELUL I

Valori medii (microni) ale grosimii intimei şi mediei segmentelor proximale ale arterelor descendentă anterioară (a), circumflexă (b) şi coronară dreaptă (c), corelate cu vîrsta, pînă la 10 ani (după C. VELICAN şi D. VELICAN, Atherosclerosis 1979 a, reprodus cu permisiunea editurii Associated Scientific Publishers, Elsevier, Amsterdam)

Vîrsta:	Subiecţi examinaţi	Grosimea medie a intimei			Grosimea medie a mediei			Raportul intimă medie		
		a	b	c	a	b	c	a	b	c
Feţi 5 luni	10	8	5	12	42	30	46	0,19	0,17	0,26
Feţi 9 luni	20	23	20	25	60	42	68	0,46	0,47	0,37
Sugari 3 luni	30	56	38	32	67	51	62	0,83	0,74	0,53
Sugari 6 luni	10	62	46	39	75	57	65	0,88	0,90	0,60
Copii 1 an	10	78	55	56	78	66	68	1,00	0,83	0,82
Copii 3 ani	10	103	68	59	101	73	81	1,01	0,93	0,72
Copii 5 ani	10	113	92	73	111	96	88	1,01	0,95	0,82
Copii 10 ani	10	146	108	105	139	108	109	1,05	1,00	0,96

Intima neoformată nu include straturi concentrice de celule musculare netede aşa cum sînt cele care alcătuiesc microarhitectura mediei vasului, ci este formată dintr-un număr variabil de coloane izolate de celule orientate longitudinal, dispersate într-o substanţă fundamentală abundentă în care se găsesc numeroase fibre elastice şi de colagen. Drept urmare, dezvoltarea progresivă a unei intime îngroşate modifică raportul dintre elementele contractile şi fibre în favoarea acestora din urmă, masa musculară în întregul perete arterial scăzînd de la 75—90% la făt şi nou născut, la 35—40% la copiii între 5 şi 10 ani (VELICAN C. şi VELICAN 1979 c). Această reducere a masei musculare continuă la adolescenţi şi adulţii tineri, apărînd aspecte ce sugerează o „atrofie" a mediei musculare a arterelor coronare. „Atrofia" devine şi mai pronunţată în zonele unde apar plăci fibroase şi unde media nu reprezintă decît 1/7—1/10 din grosimea totală a peretelui arterial. Atît dezvoltarea considera-

Scanned with OKEN Scanner

bilă a intimei începînd din cursul vieţii fetale, cît şi dezvoltarea redusă a mediei în cursul vieţii extrauterine, reflectă particularităţi ale procesului de remodelare a arterelor coronare sub acţiunea stresurilor hemodinamice. În arterele altor organe (cerebrale, renale, hepatică, splenică etc.) nu se pot detecta modificări similare, aşa cum ilustrează *fig. 10*. Dezvoltarea unui ţesut conjunctiv intimal în arterele coronare de nou-născut, sugar şi copil ar reflecta existenţa unor stresuri hemodinamice particulare. După cum am mai menţionat, la începutul fiecărei sistole circulaţia intramiocardică este între-

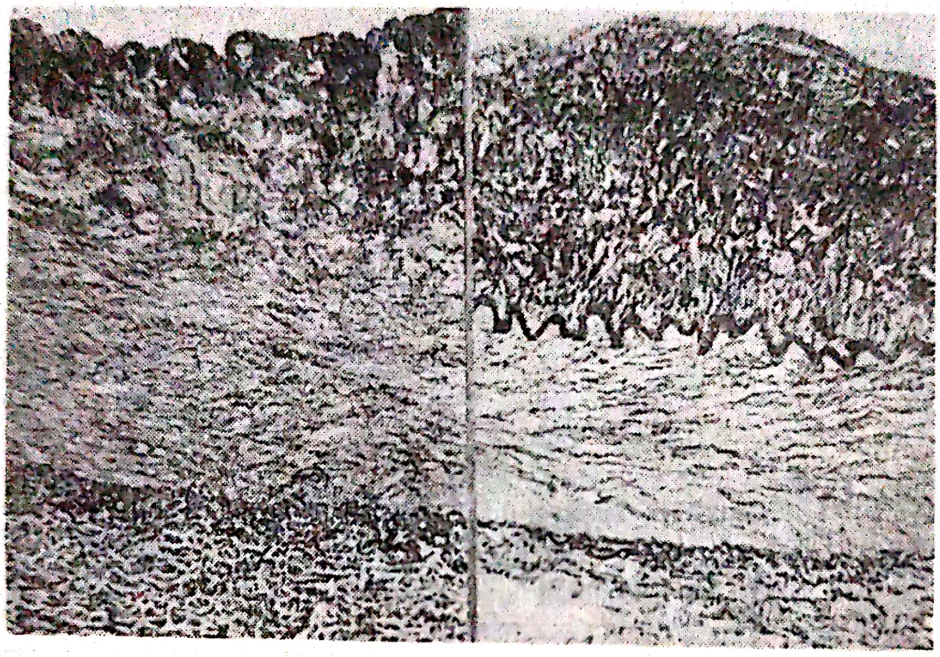


Fig. 10—Aspect comparativ al remodelării la stresuri hemodinamice ale arterei renale (stînga) şi arterei coronare (dreapta). Artera renală se remodelează prin îngroşarea progresivă a mediei, care reprezintă peste 80 % din grosimea peretelui vascular; artera coronară se remodelează prin îngroşarea intimei, în timp ce media constituie mai puţin de 40 % din grosimea totală a peretelui vascular. Fucselină Weigert — albastru alcian, ×120.

ruptă de contracţia masei musculare a ventriculului stîng. Cantitatea de sînge care nu poate fi împinsă spre reţeaua capilară şi umple lumenul arterelor mici şi arteriolelor, ar da naştere în astfel de condiţii unei unde retrograde care, la nivelul vaselor mari de tipul arterelor descendentei anterioare şi circumflexei, ar intra în coliziune cu sîngele venit din aortă (GREGG 1963). Turbulenţele şi undele reflectate care rezultă dintr-o astfel de coliziune ar reprezenta importante stresuri hemodinamice adiţionale, ce nu există în teritoriile arteriale ale altor organe şi ţesuturi. Aspectul de involuţie al mediei nu are o explicaţie satisfăcătoare, tensiunea exercitată asupra peretelui coronarian la o presiune sistolică de 100 mm Hg fiind de $2{,}03 \times 10^4$ dine cm^2 iar stresul exercitat asupra mediei musculare a arterei de $74{,}5 \times 10^4$ dine/cm^2 (GLAGOV 1972). În prezenţa unor astfel de stresuri ar fi fost de aşteptat să se producă o creştere progresivă cu vîrsta a grosimei mediei, aşa cum apare în toate celelalte artere din organism cu excepţia arterelor coronare. Ar fi trebuit să crească semnificativ după naştere mai ales grosimea mediei coronarei stîngi, odată cu trecerea predominanţei forţei de contracţie de la ventriculul drept la ventriculul stîng. Se menţionează o atrofie a mediei arterelor coronare şi la cazurile cu hipertrofie ventriculară (WILENS 1966), ceea ce

Scanned with OKEN Scanner

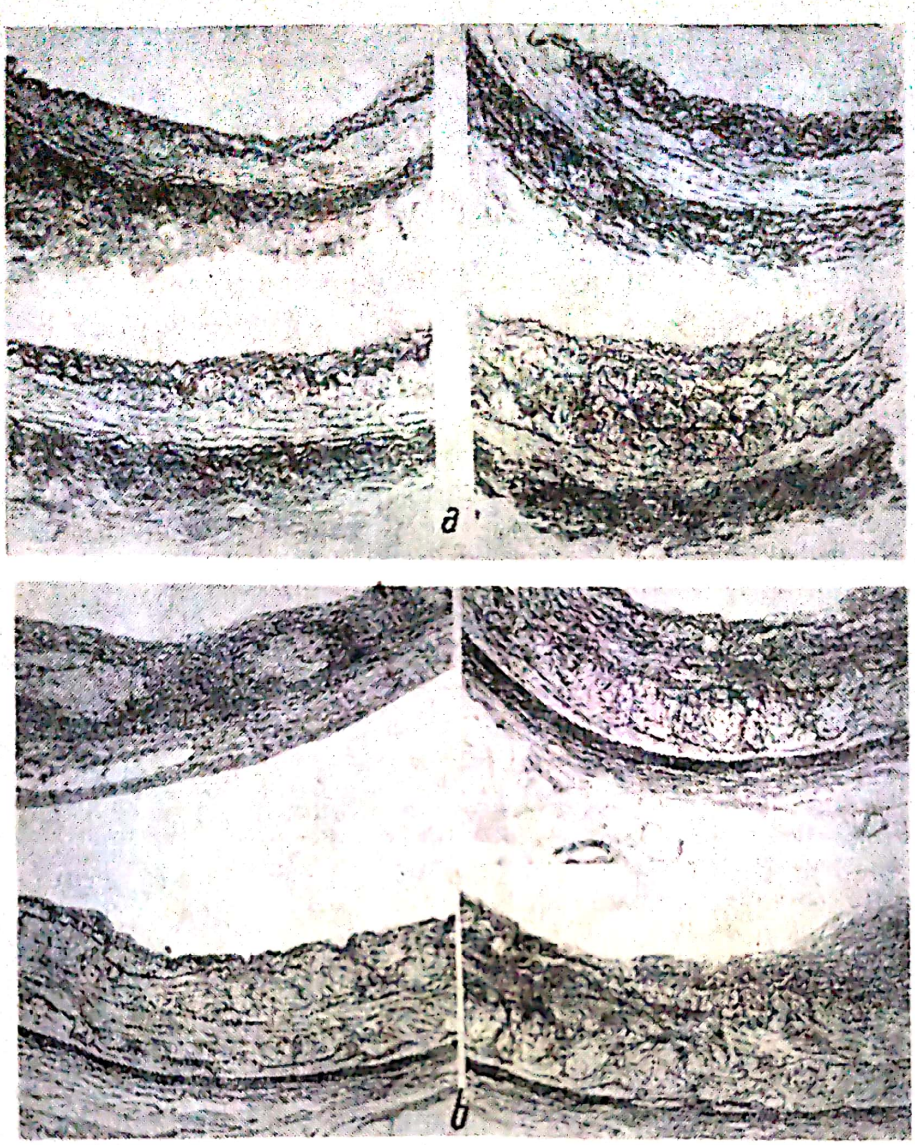


Fig. 11 a. Artere coronare de nou-născut şi sugar, prezentînd o bogăţie considerabilă de coloane musculare longitudinale în intima îngroşată. Fucselină Weigert — albastru alcian, × 60. b. Trunchiul comun al arterei coronare stîngi de la un adolescent. Secţiunile au fost făcute la nivelul emergenţei din aortă (sus stînga), apoi la 0,5 mm (sus dreapta), 1 mm (jos dreapta) şi 1,5 mm (jos stînga) de la emergenţă. Dezvoltare considerabilă a coloanelor musculare longitudinale atît în medie cît şi în intimă. (După VELICAN C. şi VELICAN D., Atherosclerosis 1979 a, cu permisiunea editurii Associated Scientific Publishers, Elsevier, Amsterdam).

demonstrează că nici nevoile de debit crescut ale miocardului nu au un efect favorabil asupra dezvoltării mediei. Această remodelare inadecvată a mediei induce în mod compensator îngroşarea intimei, creîndu-se astfel terenul favorabil dezvoltării leziunilor de ateroscleroză. Aşa s-ar explica susceptibilitatea particulară la ateroscleroză a arterelor coronare de om, în comparaţie cu cele de mamifere şi păsări care prezintă o medie normal dezvoltată şi absenţa îngroşării intimei. Aşa s-ar explica şi apariţia mult mai rapidă a leziunilor de ateroscleroză în arterele coronare de om, în comparaţie cu arterele altor organe şi ţesuturi la care media se dezvoltă normal, iar îngroşarea intimei apare doar la adulţi. Cercetările noastre au demonstrat că primele plăci fibroase aterosclerotice pot fi detectate la copiii de 6—10 ani, în timp ce în arterele

cerebrale ele apar după vîrsta de 40 de ani, iar în arterele renale şi hepatice sau splenice după vîrsta de 45—50 de ani.

O altă particularitate a remodelării arterelor coronare sub influenţa stresurilor hemodinamice locale o reprezintă dezvoltarea considerabilă a coloanelor musculare longitudinale. La făt ele pot fi observate doar în zonele de formare a perniţelor intimale, dar începînd cu copilăria, devin tot mai abundente în segmentele proximale ale arterelor coronare (*fig. 11*). Modul cum se formează poate fi dedus din secvenţializarea unor aspecte statice, frecvent întîlnite pe secţiuni semiseriate sau seriate. Celulele musculare netede din zona vecină limitantei elastice interne îşi schimbă dispoziţia, se orientează perpendicular pe această membrană, pătrund prin întreruperile ei şi se acumulează în zona subendotelială dispunîndu-se cu axul longitudinal orientat în direcţia de scurgere a curentului sanguin. Din această acumulare iau naştere coloane musculare longitudinale care, aşa cum demonstrează fig. 11, în anumite teritorii pot deveni elementul contractil dominant al arterelor coronare şi al ramurilor lor. Dezvoltarea acestor coloane sugerează că începînd din cursul vieţii fetale, arterele coronare sînt supuse unor stresuri hemodinamice particulare ce întind vasul în direcţie longitudinală şi cărora li se va opune tonusul muscular al celulelor din coloanele neoformate. Din observaţiile noastre rezultă că sînt extrem de bogate în coloane musculare longitudinale ramurile coronarelor care au o direcţie de la bază spre vîrful cordului (VELICAN C. şi VELICAN 1979 c), sîngerînd că tracţiunea s-ar exercita în special în această direcţie. S-ar mai putea sugera că aceste coloane musculare longitudinale reprezintă un mecanism contractil suplimentar, adaptat învingerii rezistenţei periferice crescute ce apare cu fiecare contracţie a musculaturii miocardului. Întreruperea aceasta ritmică a circulaţiei în vasele coronariene, cu variaţii atît de mari induse de rezistenţa periferică la început slabă, apoi moderat crescută şi în final foarte crescută pînă la oprirea totală a circulaţiei, a fost comparată ca efect cu acela produs de un organ în involuţie (GLAGOV 1972). Existenţa concomitentă în peretele arterelor coronare a unui strat muscular cu orientare circulară, localizat în medie şi a unui strat muscular cu orientare longitudinală, localizat în medie sau în intima îngroşată, permite anumite comparaţii histologice cu microarhitectura organelor cavitare, capabilă a produce mişcări peristaltice. În cursul observaţiilor noastre microscopice am constatat că prezenţa coloanelor musculare longitudinale în peretele arterelor altor organe şi ţesuturi este o raritate. Aceste coloane apar însă în mod constant în artera bronhică, ale cărei ramuri sînt şi ele ritmic întinse în direcţie longitudinală la fiecare expansiune respiratorie a cutiei toracice. Ar mai fi de menţionat prezenţa constantă a acestor coloane musculare longitudinale şi în peretele venelor, mai ales a celor ale membrelor inferioare şi cavităţii abdominale, care au de învins efectele gravitaţiei. Numărul coloanelor se măreşte cînd apar obstrucţii în circulaţia sîngelui prin vena respectivă.

A treia particularitate importantă a procesului de remodelare a arterelor coronare, aşa cum reiese din datele obţinute prin cercetările noastre, o constituie organizarea structurală complexă a zonelor de bifurcaţie şi de emergenţă (VELICAN C. şi VELICAN 1977 b; VELICAN D. şi col. 1977; VELICAN C. şi VELICAN 1978 c, 1979 c). Apariţia perniţelor intimale poate fi observată în toate arterele, atît la sfîrşitul vieţii fetale cît şi în primii ani ai vieţii extrauterine. Dar în nici un alt vas ele nu sînt atît de numeroase şi nu prezintă o dezvoltare atît de precoce, o evoluţie rapidă şi o microarhitectură

Scanned with OKEN Scanner

complexă ca în arterele coronare. Aşa cum am mai menţionat, din fuzionarea lor ia naştere intima difuz îngroşată. O particularitate structurală a arterelor coronare o constituie faptul că această intimă îngroşată a zonelor de emergenţă nu pătrunde şi în peretele ramurilor fiice, ci se opreşte la orificiul acestor ramuri (*fig. 12*). Aspecte asemănătoare cu cele prezentate în fig. 12 nu pot fi întîlnite în arterele altor organe şi ţesuturi. Zonele de emergenţă mai prezintă şi o organizare macromoleculară deosebită de restul peretelui arterial. În aceste zone, regiunea de intrare în emergenţă are o compoziţie chimică şi sta-

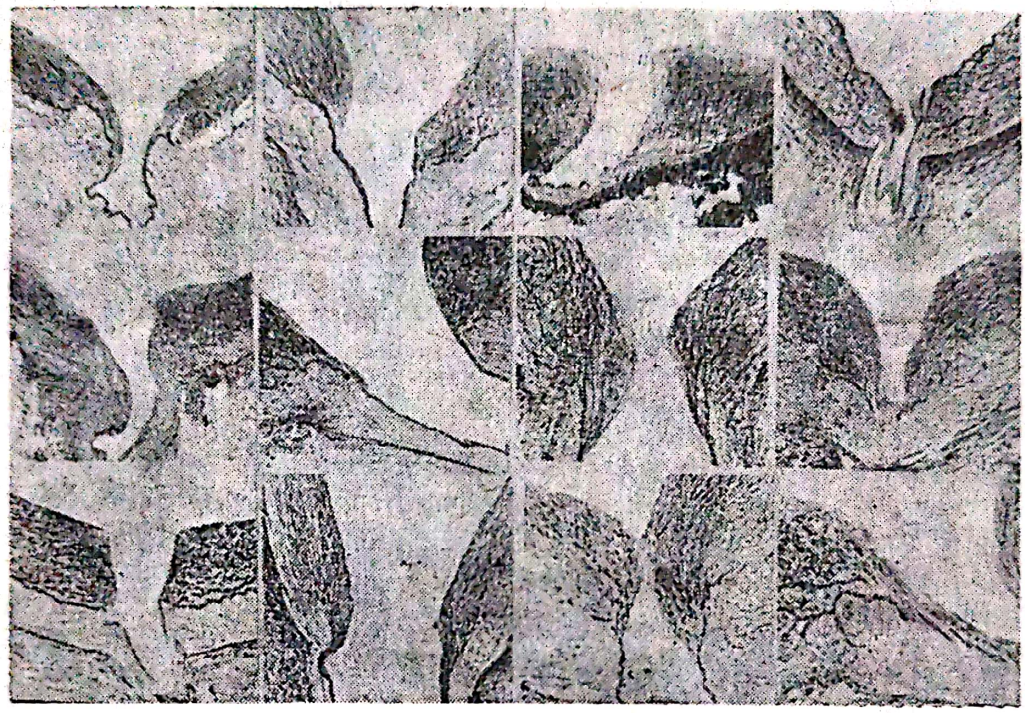


Fig. 12 **Imagini microscopice demonstrînd că intima îngroşată a arterelor coronare (descendenta anterioară, circumflexă şi coronara dreaptă), se opreşte brusc la nivelul zonelor de emergenţă şi nu pătrunde în ramurile fiice atunci cînd acestea au diametrul sub 1 mm. De remarcat, de asemeni, organizarea structurală complexă a zonelor de emergenţă, cu numeroase perniţe, îngroşări intimale importante şi aglomerări de coloane musculare longitudinale (după VELICAN C. şi VELICAN D., Atherosclerosis 1979 a. cu permisiunea editurii Associated Scientific Publishers Elsevier, Amsterdam).**

bilitate structurală diferită de aceea a pintenului de separare a fluxului sanguin, iar pintenul diferă de regiunea paraostială (VELICAN C. şi VELICAN 1978 c). Un alt aspect particular menţionat în lucrările noastre se referă la dispoziţia coloanelor musculare longitudinale. Constant prezente în principalele zone de bifurcaţie şi emergenţă, ele parcurg un traiect semicircular, înconjurînd în parte orificiul ramurii fiice şi dînd naştere unei microarhitecturi ce sugerează un dispozitiv sfincterian (*fig. 13*). Acest dispozitiv a fost evidenţiat de noi în special la emergenţa primei artere septale din artera descendentă anterioară (VELICAN C. şi VELICAN 1977 a, 1978 c, 1979 c). S-a sugerat că perniţele intimale anormal dezvoltate în arterele coronare de nou-născut pot fi implicate în obstruarea orificiilor, rezultînd ocluzia emergenţei unor ramuri arteriale şi astfel s-ar putea explica anumite morţi subite cardiace apărute la vîrste foarte tinere (STRYKER 1946; GAULT şi USHER 1960; CLAPP şi NAEYE 1961). Contracţia dispozitivului sfincterian descris de noi ar mai putea explica în plus apariţia de morţi subite cardiace, de infarcte de miocard

Scanned with OKEN Scanner

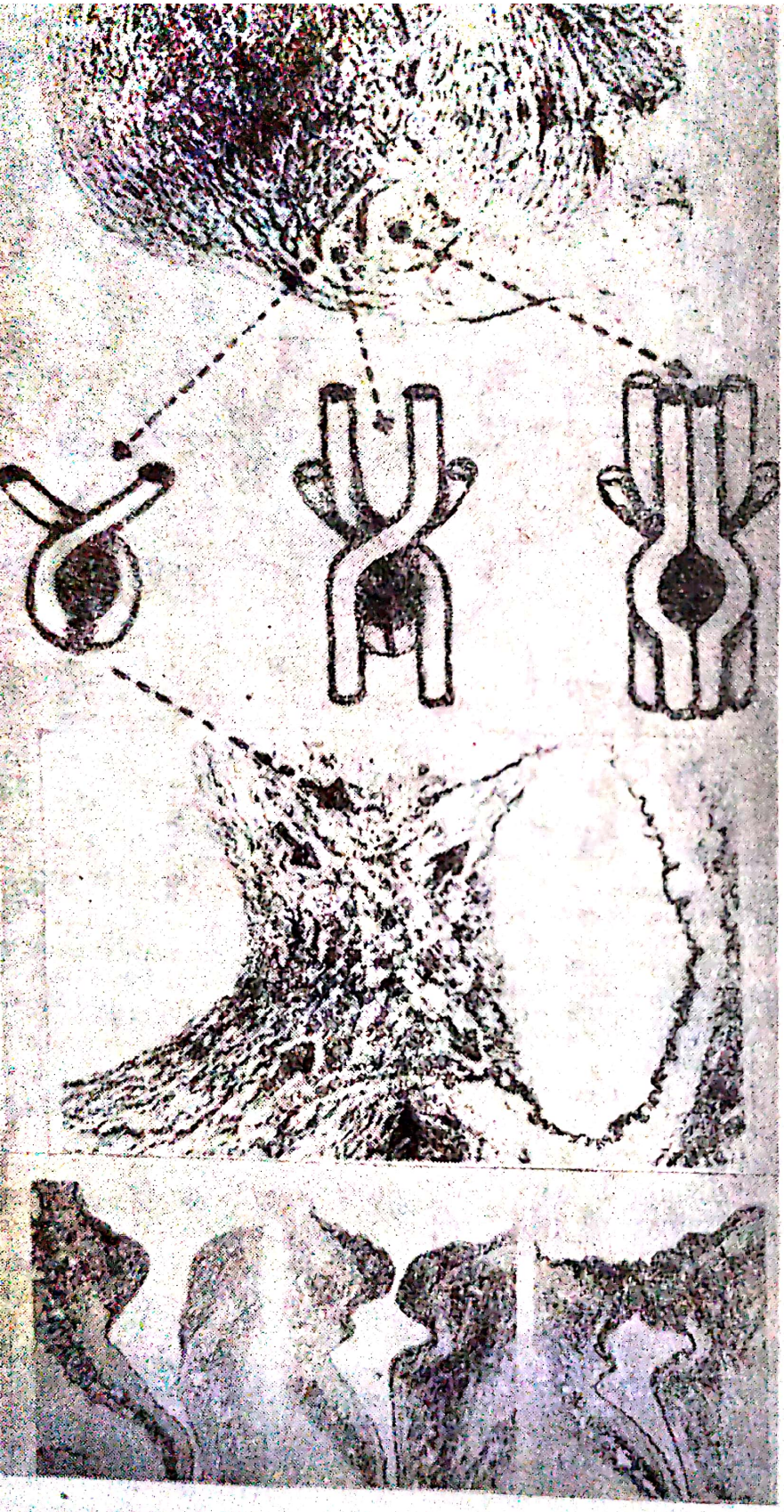


Fig. 13—Dispozitiv sfincterian, evidențiat în arterele coronare, alcătuit din grupe de coloane musculare longitudinale ce se încrucișează la nivelul emergențelor. În partea de jos a imaginii prezentăm trei secvențe care sugerează închiderea emergenței ramurii nodului atrio-ventricular, ca urmare a contracției dispozitivului sfincterian (după VELICAN C. și VELICAN D. Atherosclerosis 1977 b, cu permisiunea editurii Associated Scientific Publishers, Elsevier, Amsterdam).

și de crize de angină pectorală la adulții cu coronare normale angiografic sau la examenul postmortem (*fig. 14*).

Pentru a înțelege mai bine remodelarea particulară a arterelor coronare în comparație cu arterele altor organe și țesuturi, mai menționăm că în afara întreruperilor ritmice ale circulației cu fiecare contracție a miocardului, mai există și alte stresuri hemodinamice ce iau naștere numai în acest pat vascular. Emergența coronarelor fiind situată imediat deasupra valvulelor aortice, sîngele evacuat din ventriculul stîng pătrunde în același timp în aortă și în arterele coronare. Din această cauză arterele coronare nu beneficiază de funcția de amortizor exercitată de țesutul elastic al aortei asupra undei sistolice, peretele coronarelor fiind astfel mult mai brutal destins la trecerea acestei unde decît cel al arterelor cerebrale, renale etc. Un alt factor care intensifică stresurile hemodinamice în patul coronarian, este numărul mare de puncte de emergență. Din trunchiul comun al coronarei stîngi iau naștere descendenta anterioară și circumflexa, iar de-a lungul arterei descendente anterioare se desfac 1—3 diagonale, 2—6 ramuri ventriculare, 1—4 septale și numeroase ramuri terminale. Din coronara dreaptă iau naștere succesiv arterele conului, nodului atrial, auriculului drept, marginala dreaptă, apoi ramura nodului atrio-ventricular și descendenta posterioară. Marea majoritate a acestor emergențe sînt în unghi drept, creîndu-se astfel condiții favorabile apariției unor stresuri hemodinamice aterogene. Acest caracter aterogen se accentuează cînd ramurile respective ancorează vasul principal la masa miocardului, creînd o imobilizare relativă, ce oferă teren favorabil de acțiune stresului de dragare. Plăcile cele mai grave, cu caracter stenozant pronunțat, au fost observate în zona unde artera descendentă anterioară este ancorată de miocard prin intermediul primei sale ramuri septale (FULTON 1965). În materialul investigat de noi, am detectat o incidență de 27% a plăcilor aterosclerotice în zona de emergență a arterei descendente anterioare, 20% în zona de emergență a arterei circumflexe, 18% la emergența trunchiului comun al coronarei stîngi, 14% la emergența arterei coronare drepte. Au mai fost observate plăci în punctul de emergență a primei ramuri diagonale (8%) și primei ramuri septale (13%) ale arterei descendente anterioare (VELICAN D. și col. 1977). Primele plăci fibroase la copiii între 6—10 ani au fost descrise tot la emergența descendentei anterioare, circumflexei, primei diagonale și primei septale (VELLICAN D. și VELICAN 1978 b, 1979), subiect asupra căruia vom reveni în capitolul V.

Particularitățile stresurilor hemodinamice existente în circulația coronariană pot fi în parte corelate și cu *patern*-ul *de ramificație*. Dezvoltarea țesutului elastic, a coloanelor musculare longitudinale, a intimei îngroșate, a perniței intimale localizate la emergențe etc. este în mare măsură influențată de modul cum se ramifică vasele principale (VELICAN D. și VELICAN 1978 a). De asemeni, cantitatea și calitatea mucopolizaharidelor acide din substanța fundamentală a diferitelor segmente arteriale variază în funcție de acest *patern* de ramificație (VELICAN C. și VELICAN 1978 c). Pentru fiecare *patern* de ramificație apar stresuri hemodinamice particulare, în funcție de lungimea vasului principal, unghiul de emergență a ramurilor sale, numărul punctelor de emergență pe unitatea de lungime, diametrul colateralelor etc. Observații cu caracter preliminar, efectuate în Institutul de Medicină internă, sugerează că *patern*-ul de ramificație poate avea valoarea unui factor de risc*. Există tipuri de ramificație care, prin stresurile hemodinamice parti-

* D. VELICAN și C. VELICAN, Rev. Roum. Méd., Méd. int. Nr. 2/1981 (sub. tipar)

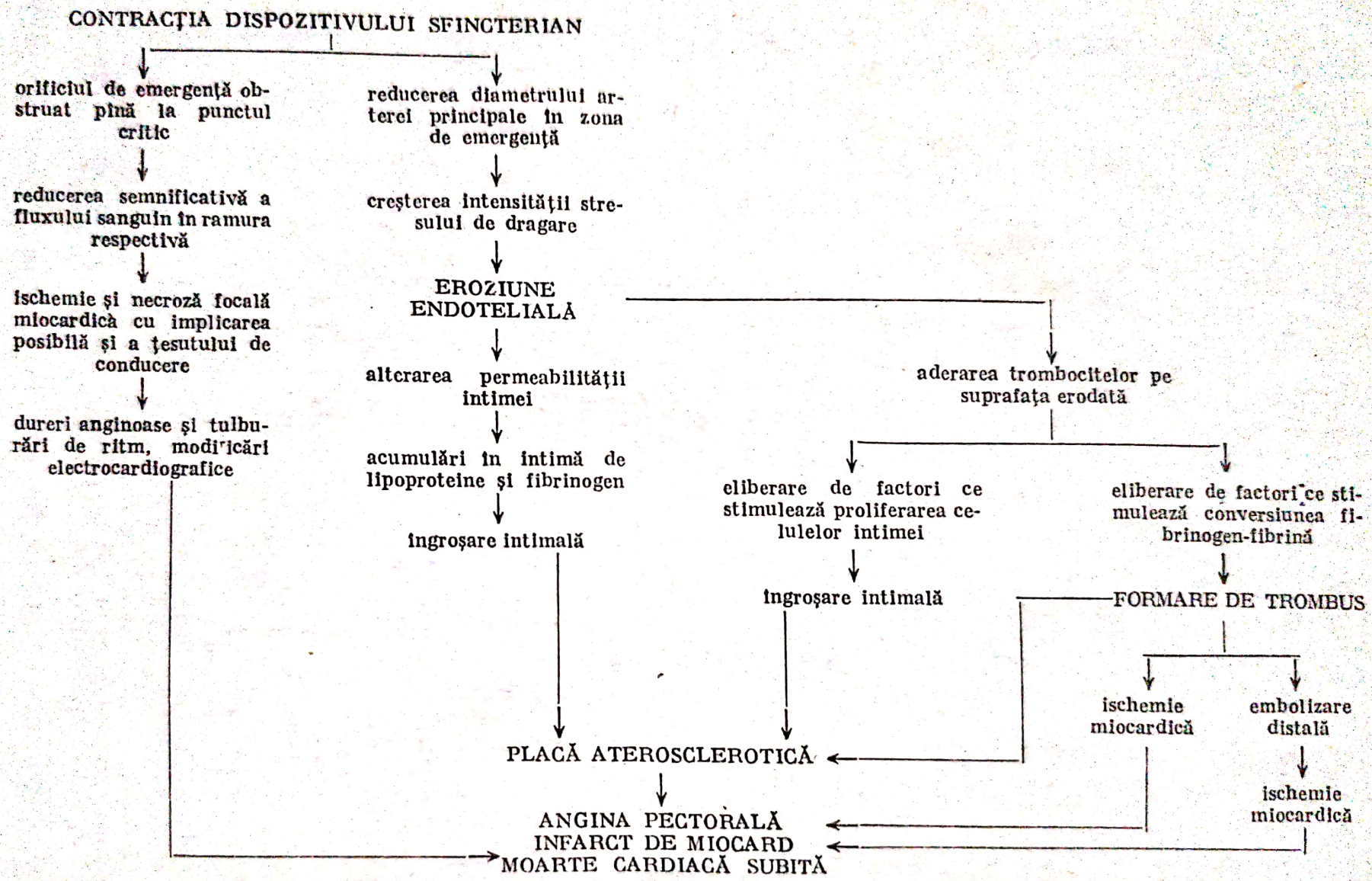


Fig. 14 Implicațiile posibile în patogenia aterosclerozei ale contracției dispozitivului sfincterian evidențiat de lucrările noastre în principalele puncte de emergență ale arterelor coronare.

Scanned with OKEN Scanner

culare cărora le dau naştere, favorizează dezvoltarea unor leziuni mai numeroase, mai severe, cu caracter obstructiv mai pronunţat, în comparaţie cu alte tipuri de ramificaţie, observaţiile fiind efectuate pe subiecţi de vîrste, sex, condiţii de viaţă şi de exit similare.

Datele prezentate referitoare la procesul de remodelare al arterelor coronare sub acţiunea factorilor hemodinamici, duc la concluzia că aceste vase nu mai pot fi prezentate în grupul comun al arterelor de tip muscular, întrucît ne aflăm în prezenţa unor entităţi. Modul particular cum răspund arterele coronare la stimuli nervoşi, catecolamine, histamină şi variate medicamente, constituie de altfel o indicaţie destul de elocventă asupra particularităţilor structurale şi funcţionale ale acestor vase.

b. ARTERELE CEREBRALE

Nevoile *acute* de debit sanguin mărit ale creierului sînt mult mai rare şi mai puţin stringente decît cele ale miocardului. În arterele coronare, debitul sanguin creşte la toate solicitările miocardului, iar dacă această creştere este inadecvată, celula contractilă se adaptează reducînd travaliul, spre a utiliza cît mai eficient oxigenul disponibil. Creierul are nevoie de numai aproximativ o pătrime din oxigenul furnizat de arterele cerebrale, avînd astfel permanent la dispoziţie rezerve mari, fără a fi necesare creşteri de debit. Datorită acestor particularităţi funcţionale se poate înţelege de ce în timp ce în arterele coronare solicitarea unei cantităţi mai mari de oxigen de către miocard duce, consecutiv creşterii debitului, la intensificarea tuturor tipurilor de stres hemodinamic, în circulaţia cerebrală aceste procese au o importanţă mult mai mică.

Două perechi de artere, carotidele şi vertebralele, furnizează creierului aproximativ 750 ml sînge pe minut, reprezentînd aproximativ 15% din debitul cardiac. În condiţii fiziologice, ar fi necesari 44 ml sînge pentru 100 g parenchim cerebral, substanţa cenuşie necesitînd o cantitate de aproximativ patru ori mai mare decît cea albă. Din această cantitate de sînge creierul utilizează în medie 3,0 ml oxigen pentru 100 g parenchim cerebral, neexistînd diferenţe semnificative între starea de veghe şi cea de somn.

Trei factori de importanţă majoră sînt de luat în consideraţie în studiul circulaţiei cerebrale şi implicit în producerea stresurilor hemodinamice cu potenţialităţi aterogene: I) debitul sanguin şi presiunea din artere; II) rezistenţa opusă de ţesutul cerebral trecerii coloanei de sînge; III) rezistenţa opusă de reţeaua de vene.

Presiunea sîngelui din arterele de la baza creierului variază în funcţie de poziţia corpului, în ortostatism scăzînd cu aproximativ 1 mm Hg pentru fiecare centimetru cu care coloana de sînge urcă deasupra cordului. Astfel, dacă presiunea medie în ventriculul stîng ar fi de 100 mm Hg, iar distanţa pînă la baza creierului de 40 cm, presiunea de perfuzie la bază ar rămîne de numai aproximativ 60 mm Hg. Cînd subiectul este în clinostatism, perfuzia se face cu aceeaşi presiune ca şi la nivelul membrelor superioare. Ar rezulta din aceste date că stresurile hemodinamice sînt mai intense la cei care stau culcaţi decît la cei care stau în picioare. Această constatare are doar o valabilitate parţială, întrucît circulaţia cerebrală dispune de mecanisme specifice de *autoreglare*. Prin acest termen definim capacitatea de modificare a diametrelor vaselor cerebrale spre a se menţine un debit şi o presiune constantă cînd se produc variaţii semnificative în circulaţia sistemică. Această autoreglare se face însă

numai între anumite limite; la maimuţe, de exemplu, presiunea în arterele cerebrale rămîne constantă cînd cea sistemică variază între 125 şi 140 mm Hg. Peste această limită superioară a autoreglării, mecanismele locale sînt depăşite şi presiunea din arterele cerebrale va creşte paralel cu cea din aortă.

Autoreglarea se exercită prin mecanisme complexe, dintre ele menţionînd ca o particularitate a circulaţiei cerebrale, continuitatea spaţiilor adventiceale ale arterelor cu cele subarahnoidiene. Cînd creşte presiunea în vene, aceasta se transmite prin reţeaua capilară şi spaţiilor subarahnoidiene, iar prin ele peretelui arteriolelor şi arterelor mici, rezultînd o mărire a presiunii intramurale (DAHL, 1976). Tot în mecanismele autoreglării sînt incluse şi efecte chimice ce acţionează concomitent cu schimbările de presiune. Controlul chimic este bazat pe schimbările locale de pH induse de bioxidul de carbon. Scăderea concentraţiei bioxidului de carbon produce vasoconstricţie, mărirea concentraţiei, vasodilataţie. În condiţii fiziologice, autoreglarea menţine un debit sanguin constant; alterarea acestui mecanism poate duce la apariţia de spasme, considerate ca o exacerbare a autoreglării, sau la vasodilataţie, cu integrarea circulaţiei cerebrale în valorile circulaţiei sistemice.

Din punct de vedere *histologic*, arterele cerebrale se caracterizează printr-o limitantă elastică internă mai groasă decît a arterelor de diametre similare din alte organe şi ţesuturi. În schimb lipseşte frecvent limitanta elastică externă, iar adventicea este în continuitate cu spaţiile subarahnoidiene. Poligonul lui Willis este sediul a numeroase „anomalii", cea mai frecvent întîlnită fiind reducerea sub 1 mm a lumenului unor segmente vasculare, „anomalie" ce creează stresuri hemodinamice adiţionale.

În arterele cerebrale îngroşarea intimei apare cu aproximativ două decenii mai tîrziu decît în arterele coronare. Intima îngroşată nu atinge decît cel mult 1/3 din grosimea intimei arterelor coronare. Observaţii efectuate de noi, în colaborare cu MARIA ANGHELESCU, ne-au permis să constatăm la sfîrşitul vieţii fetale şi în primii ani ai copilăriei, existenţa unor remodelări discrete, reflectate prin: formarea de perniţe în zone de emergenţă, cu diametre mult mai mici decît cele din arterele coronare şi cu o microarhitectură mult mai simplă; apariţia unor neregularităţi de contur pe suprafaţa dinspre lumen a limitantei elastice interne (*fig. 15*). Aceste protruziuni, asociate cu reduplicări şi cu formarea unui strat acelular omogen subendotelial ar reprezenta nu-

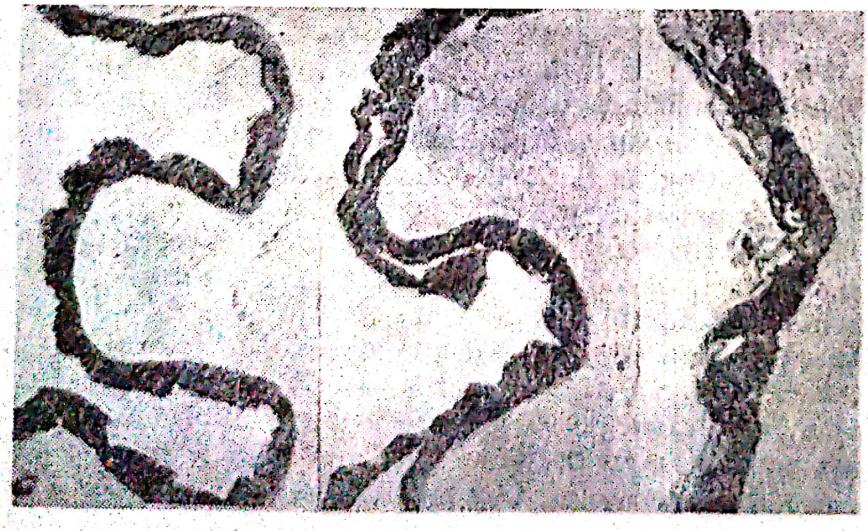


Fig. 15 Protruziuni ale limitantei elastice interne, apărînd ca primă modificare de ordin adaptativ la stresuri hemodinamice ale arterei bazilare. Fucselină Weigert — albastru alcian, ×880.

Scanned with OKEN Scanner

mai adaptări induse de înaintarea în vîrstă. În schimb modificările care apar în unele perniţe intimale, reflectate de degradarea elementelor fibrilare şi celulare şi de mici acumulări lipidice pot crea, în timp, condiţii locale favorabile dezvoltării plăcilor aterosclerotice (ALEXIANU şi VUIA 1969; DRAGIEV şi TERZIEV 1971; ALEXIANU şi DRUGESCU 1974). Un aspect particular al procesului de remodelare la stres hemodinamic al arterelor de la baza creierului este reprezentat de hiperplazia mediei, contrastînd cu atrofia menţionată la nivelul arterelor coronare. Hiperplazia este urmată uneori de scleroză, detectată încă din copilărie, cu intensificare progresivă în cursul adolescenţei.

Prima descriere a distribuţiei leziunilor de ateroscleroză în arterele cerebrale aparţine lui WOLKOFF (1933), care menţionează apariţia acestor leziuni după vîrsta de 40 de ani. Într-un prim stadiu leziunile aterosclerotice afectează artera carotidă internă şi treimea superioară a arterei bazilare, iar ulterior se extind în toată artera bazilară, precum şi în artera vertebrală şi artera cerebrală posterioară, „ocolind" artera cerebrală anterioară. După cum am mai menţionat, susceptibilitatea mai redusă la afectarea aterosclerotică a arterei cerebrale anterioare în comparaţie cu alte artere de diametre similare de la baza creierului, s-ar datora, cel puţin în parte, tunelului de ţesut cerebral prin care trece şi care îi conferă o anumită rezistenţă la distensia ritmică indusă de unda pulsatilă. Importanţa stresurilor hemodinamice în apariţia acestor leziuni este sugerată şi de observaţiile privind afectarea cu o frecvenţă şi intensitate similară a arterelor simetrice. Pentru aceeaşi ipoteză pledează şi localizarea similară a leziunilor aterosclerotice în arterele simetrice. Intensitatea mai redusă a acţiunilor aterogene exercitate de stresurile hemodinamice în arterele cerebrale, în comparaţie cu arterele coronare a fost corelată cu: I) apariţia îngroşărilor intimale cu aproximativ două decenii mai tîrziu; II) gradul redus de îngroşare intimală (aproximativ 1/3 din cel prezent în arterele coronare); III) dezvoltarea leziunilor de ateroscleroză cu 2—3 decenii mai tîrziu decît în arterele coronare; IV) evoluţia mai „benignă" a plăcilor aterosclerotice care ajung foarte rar la aspecte ulcerative, în timp ce în arterele coronare ulcerarea plăcilor este frecventă.

c. AORTA

Vom insista mai puţin asupra stresurilor hemodinamice ce acţionează asupra aortei deşi, sub anumite aspecte, au fost cele mai mult studiate. Le considerăm însă mai puţin importante întrucît plăcile aterosclerotice ce apar în aceste teritorii nu au un caracter stenozant şi în consecinţă nu determină manifestări clinice ale aterosclerozei.

În materialul nostru, primele modificări ale peretelui aortic corelate cu acţiunea stresurilor hemodinamice, au apărut la fătul de 7—9 luni sub aspectul unor zone subendoteliale modificate, cu diametre de 150—300 μm; aceste zone sînt sediul unui proces edematos, ce duce la degradarea lamelor elastice afectate, proces ce se întinde pe aproximativ 1/3 din grosimea mediei (*fig. 16*). După degradarea lamelor elastice, se produce o sinteză masivă de mucopolizaharide acide şi o reţinere de glicoproteine, probabil de origine plasmatică. Într-o fază ulterioară proliferează celule musculare netede migrate din zonele mai profunde ale mediei şi apar fibrele elastice şi de colagen ale ţesutului de neoformaţie. Prima lamă elastică ce nu a fost afectată de procesul degradativ

Scanned with OKEN Scanner

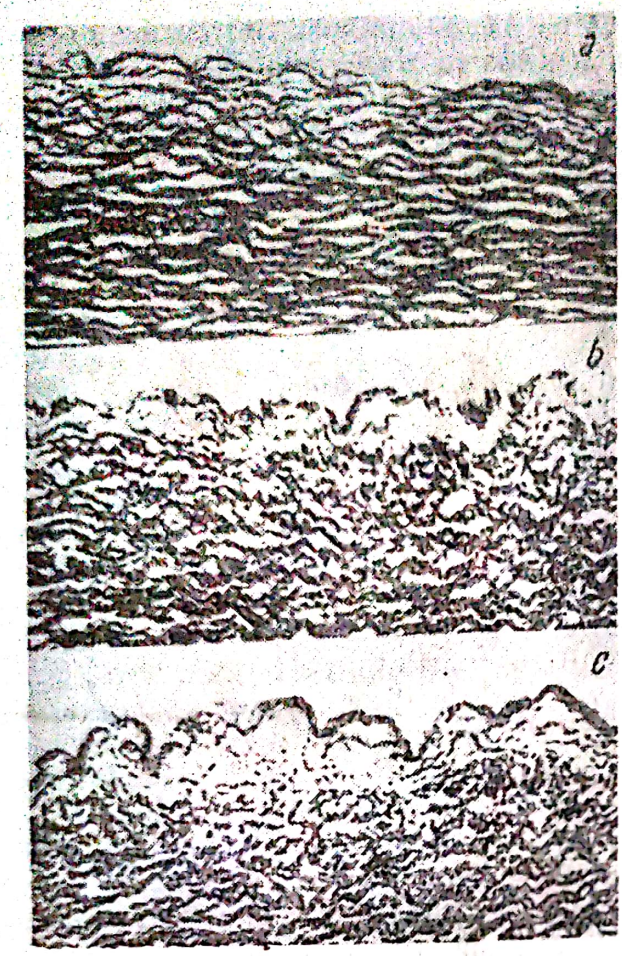


Fig. 16 Trei imagini succesive (a, b, c) ale procesului de degradare a lamelor elastice din zona subendotelială a aortei de sugar, cu delimitarea viitorului strat intimal. Fucselină Weigert — albastru alcian, ×440.

se îngroaşă şi ia aspectul unei limitante elastice, separînd acest ţesut de neoformaţie de restul mediei. Într-o etapă finală toată această reorganizare structurală duce la formarea intimei care, spre deosebire de arterele coronare şi cerebrale nu apare suprapusă mediei, ci se dezvoltă în grosimea ei. Primele remodelări par a fi genetic determinate, întrucît pot fi detectate constant ca topografie şi perioadă de apariţie la toţi feţii şi sugarii. Din observaţiile noastre, aspectele cele mai demonstrative pot fi observate în jurul valvulelor aortice, pe peretele posterior al aortei ascendente şi în arcul aortic. Aspecte similare de remodelare au fost constatate în cursul vieţii intrauterine şi în artera pulmonară. După naştere însă nu mai pot fi observate în acest vas, în timp ce în aortă continuă să se extindă în segmentul toracic iar într-un stadiu final şi în cel abdominal. Constatarea menţionată pledează în mod elocvent pentru rolul stresurilor hemodinamice în producerea acestor modificări, întrucît după naştere presiunea în artera pulmonară scade de aproximativ şase ori faţă de cea din aortă. Striurile lipidice, întîlnite după vîrsta de 1 an, se dezvoltă numai în aceste zone remodelate ale aortei şi nu apar nici la adult în artera pulmonară dacă presiunea intraluminală se menţine coborîtă. Acumularea de celule spumoase în intima neoformată a aortei are loc în sens centrifug, în direcţia de scurgere a curentului sanguin, primele striuri fiind detectate în jurul valvulelor aortei, de unde se extind progresiv către segmentul abdominal. La nivelul acestui segment, îngroşarea intimală prezintă dezvoltarea cea mai mare, iar plăcile aterosclerotice localizarea cea mai frecventă şi evoluţia cea mai severă.

Susceptibilitatea particulară a segmentului abdominal al aortei la dezvoltarea plăcilor aterosclerotice, în comparaţie cu arcul şi segmentul toracic, a fost corelată cu existenţa unor stresuri aterogene adiţionale. Cele mai importante par a fi undele reflectate ce iau naştere la nivelul bifurcaţiei iliacelor şi fluxurile turbulente ce apar în vecinătatea acestei bifurcaţii. Ar mai contribui la susceptibilitatea la ateroscleroză a segmentului abdominal al aortei şi modul particular cum se face remodelarea acestui segment sub acţiunea stresurilor hemodinamice. Studii comparative asupra segmentelor toracic şi abdominal au demonstrat că după naştere, numărul lamelor elastice din segmentul

Scanned with OKEN Scanner

toracic creşte de la aproximativ 35 la 56. Această creştere numerică odată cu înaintarea în vîrstă nu se însoţeşte şi de modificări semnificative ale grosimei lamelor elastice, care este de 0,012 mm la noul născut şi 0,017 mm la adult (WOLINSKY 1970 b). În segmentul abdominal al aortei numărul lamelor elastice nu se măreşte cu înaintarea în vîrstă, ci rămîne constant de la noul născut pînă la adult. În schimb, grosimea fiecărei lame se modifică considerabil, de la 0,012 mm la noul născut la 0,026 mm la adult. Datele menţionate sugerează că adaptarea la stresurile hemodinamice apare în segmentul toracic sub aspectul creşterii numerice a lamelor elastice, iar în segmentul abdominal sub aspectul îngroşării lamelor preexistente. S-a calculat că la o presiune de aproximativ 2 000 dine/cm² cît există în segmentul abdominal, aceasta ar trebui teoretic să includă cel puţin 56 de lame elastice spre a rezista acestei presiuni exercitate de coloana de sînge în mişcare. Absenţa remodelării postnatale s-ar datora lipsei de *vasa vasorum* în aorta abdominală, contrastînd cu bogăţia lor în aorta toracică (WOLINSKY 1970 b). Lamele elastice se formează la graniţa dintre adventice şi medie, unde există o vascularizaţie abundentă datorită reţelelor capilare furnizate de *vasa vasorum*. Pe măsură ce sînt neoformate, aceste lame pătrund în grosimea mediei, avansînd către intimă şi înlocuind treptat lamele degradate. În aorta abdominală acest proces de elastogeneză este absent datorită nedezvoltării reţelei capilare furnizată de *vasa vasorum*, vasul adaptîndu-se la stresurile hemodinamice din ce în ce mai intense, prin îngroşarea progresivă a lamelor elastice formate în cursul vieţii intrauterine. Această îngroşare excesivă le reduce distensibilitatea şi elasticitatea, favorizînd procesele de uzură, fisurarea şi calcificarea. Defectul de adaptare la nivelul mediei aortei abdominale este inadecvat compensat, ca şi la arterele coronare, printr-o îngroşare excesivă a intimei ce constituie patul necesar formării plăcilor aterosclerotice.

B. EFECTE ATEROGENE ALE STRESURILOR HEMODINAMICE, CORELATE CU REVASCULARIZAREA CHIRURGICALĂ A MIOCARDULUI

By pass-ul aorto-coronarian prin grefă de venă safenă internă şi mai rar prin implant de arteră mamară internă, a cunoscut în ultimul deceniu o largă utilizare în scopul revascularizării chirurgicale a miocardului ischemic (POP D. POPA 1975). Se estimează la peste 300 000 numărul pacienţilor operaţi pînă acum în Statele Unite, numărul anual al operaţiilor atingînd recent 40 000.

După un deceniu de la publicarea primelor rezultate (FAVALOPO şi col. 1970; JOHNSON şi col. 1970), s-au acumulat numeroase observaţii care aduc date noi atît de tratament, cît şi de etiopatogenie.

În linii mari se poate considera un mare succes obţinerea unor procente foarte scăzute de mortalitate intraoperatorie şi a unui timp relativ lung de persistenţă funcţională a grefei. Pe de altă parte însă, datele din literatură nu atestă persistenţa îndelungată a ameliorărilor iniţiale ale simptomatologiei, nici prevenirea infarctului de miocard, aritmiilor şi insuficienţei cardiace congestive. De asemenea durata vieţii nu a putut fi prelungită la majoritatea pacienţilor operaţi (Mc INTOSH şi GARCIA 1978).

Scanned with OKEN Scanner

Prin largă utilizare a grefei de venă safenă pentru *by pass*-ul aorto-coronarian, au fost obținute anumite date referitoare la rolul stresurilor hemodinamice în evoluția mai rapidă a leziunilor preexistente și la apariția plăcilor în peretele venei grefate.

1. AGRAVAREA LEZIUNILOR PREEXISTENTE ÎN ARTERELE CORONARE

Compararea angiografiilor arterelor coronare efectuate înainte și după operație, precum și apariția unor semne clinice de ischemie miocardică după intervenție la anumiți pacienți, au sugerat că *by pass*-ul aorto-coronarian prin grefă de venă safenă poate induce o potențare a evoluției leziunilor preexistente. Statistici efectuate pe un mare număr de cazuri, menționează o evoluție mai rapidă a leziunilor preexistente la 10—14% dintre pacienții tratați medical și la 40—45% dintre cei tratați chirurgical (GLASSMAN și col. 1974).

Prin crearea unei căi noi de vascularizație a miocardului, placa aterosclerotică stenozantă sub care s-a implantat capătul distal al segmentului de venă safenă, se va găsi sub acțiunea conjugată a doi factori hemodinamici principali: primul, reprezentat de curentul sanguin care trece prin coronara obstruată parțial, avînd un debit mult redus, atît cît permite stenoza; al doilea, reprezentat de curentul sanguin care trece prin grefă, avînd un debit, de 75—95 ml pe minut, egal cu cel al unei artere coronare normale. Presiunea coloanei de sînge care vine prin grefă, ca și viteza sa de scurgere sînt mult mai mari decît a celei care trece prin segmentul de coronară stenozat. La locul unde se întîlnesc, respectiv la capătul distal al grefei, se produce o coliziune, urmată de formarea unui curent retrograd de la capătul distal al grefei spre placa stenozantă. Cu cît placa produce o obstrucție mai severă, cu atît va lua naștere un curent retrograd mai puternic venind de la grefă (KNIAZEV și col. 1976). Sub acțiunea acestui curent retrograd apar în jurul plăcii preexistente fluxuri turbulente, zone de stază, vibrații intense și alte modificări de ordin hemodinamic cu caracter aterogen. Agregarea și degranularea trombocitelor în jurul plăcii sînt puternic potențate, ca și acumulările de rețele de fibrină. Astfel iau naștere noi trombi care se suprapun celui preexistent și placa se întinde în suprafață. Dacă stenoza pentru care s-a instituit *by pass*-ul se găsește la 2—3 cm de la emergența descendentei anterioare din trunchiul comun al coronarei stîngi, extinderea leziunii preexistente poate obstrua orificiile din care iau naștere primele ramuri diagonale. Din această obstruare rezultă ischemii miocardice severe, mergînd pînă la apariția de infarcte cu manifestări clinice dramatice. Dacă stenoza are o poziție cu 1—2 cm mai joasă, extinderea plăcii preexistente poate obstrua orificiul de emergență al primei ramuri septale a arterei descendente anterioare. Din această obstruare poate rezulta, de asemenea, un infarct de miocard ce interesează și septul interventricular, asociat frecvent cu tulburări grave de conducere. Aceste complicații induse de extinderea plăcilor aterosclerotice preexistente apar în special în cursul primului an de la instituirea *by pass*-ului aorto-coronarian (MAURER și col. 1974). În *by-pass*-urile efectuate pentru plăci aterosclerotice stenozante prezente în artera coronară dreaptă, progresiunea leziunilor preexistente poate afecta emergența ramurilor ce irigă nodul

Scanned with OKEN Scanner

sinusal şi în special nodul atrio-ventricular, creînd pericolul apariţiei unei fibrilaţii ventriculare ireversibile.

În ceea ce priveşte segmentul distal al arterei care a primit grefa, dacă apar stenoze la locul de implantare, ele sînt considerate în general consecinţa unor manevre chirurgicale inadecvate. Cel mai des incriminat este unghiul de sutură ce poate genera unde reflectate şi turbulenţe dacă diferă mult de unghiul optim de 90°, (BOND şi col. 1976). Efectele cele mai aterogene ale stresurilor hemodinamice au fost detectate la unghiul de implantare de 55°, iar cele mai mici între 80 şi 120°.

Leziuni fără semnificaţie clinică, prezente în *aval* de locul de implantare al grefei, devin importante din punct de vedere clinic dacă sînt supuse la stresuri hemodinamice adiţionale, rezultate din intervenţia chirurgicală. Obstruarea progresivă a segmentului distal al arterei în care s-a introdus grefa, necesită de cele mai multe ori o reintervenţie chirurgicală. Din numeroasele observaţii efectuate în acest domeniu, rezultă că funcţionalitatea de moment şi de lungă durată a grefei depinde în primul rînd de rezistenţa întîlnită de coloana de sînge ce trece prin capătul distal al grefei. Drept urmare, operaţia nu trebuie recomandată la pacienţii cu vasele mici obliterate sau cu fibroză miocardică difuză ce măreşte considerabil rezistenţa periferică în circulaţia coronariană. În ambele cazuri revascularizarea miocardului nu mai este posibilă datorită debitului sanguin redus acceptat de vasele intramiocardice.

2. APARIŢIA DE LEZIUNI ÎN SEGMENTUL DE VENĂ GREFAT

Datele existente în literatură sugerează necesitatea scurgerii a cel puţin 75—95 ml de sînge pe minut prin capătul distal al grefei spre a se asigura o bună revascularizare a miocardului. Anumiţi autori consideră grefa încă „deschisă" şi la un debit de 40—50 ml sînge pe minut; sub acest debit însă există un consens în a considera că revascularizarea a devenit insuficientă, fapt confirmat de multe ori şi de reapariţia semnelor clinice de ischemie miocardică.

Cu peste şapte decenii în urmă ALEXIS CARREL (1906) remarca îngroşările intimale frecvent apărute în venele grefate în sistemul arterial. Această îngroşare a fost impropriu denumită „arterializarea" venelor; termenul este impropriu întrucît îngroşări ale intimei apar şi în venele rămase în patul lor natural, cu condiţia să se producă o creştere a presiunii intraluminale, aşa cum se întîmplă în ciroze, insuficienţa cardiacă congestivă, varice etc. Dacă în sistemul venos, îngroşarea intimei poate fi strict corelată cu creşterea presiunii intraluminale, în grefele de venă implantate în circulaţia arterială, cauzele acestei îngroşări sînt mai complexe. Intervine, pe prim plan presiunea arterială atît de traumatizantă pentru peretele venos, lipsit de intimă şi conţinînd o medie subţire, incluzînd celule musculare orientate circular, oblic şi longitudinal. Mai intervin, pe un plan secundar, scoaterea venei din conexiunile ei naturale, secţionarea colateralelor, valvulelor, zonelor de aderenţă tisulară etc., traumatizări mecanice ce se asociază cu hipoxii prelungite. Progresele tehnicii chirurgicale au eliminat aproape total aceşti factori adiţionali de alterare a segmentului de venă grefat, susţinîndu-se că în condiţiile actuale funcţionalitatea acestuia nu mai este compromisă decît de stresuri hemodinamice cu caracter aterogen.

Scanned with OKEN Scanner

Marea majoritate a autorilor menţionează că în prima săptămînă de la instituirea grefei aorto-coronariene nu apar modificări comparativ cu *patern*-ul histologic al venei rămase în patul ei natural. După o lună de la intervenţia chirurgicală se pot observa mici focare de îngroşări intimale, iar între lunile a 3-a şi a 9-a apare o hiperplazie fibromusculară difuză a intimei, ce poate prezenta, pe alocuri, un aspect stenozant. Hiperplazia este indusă de proliferarea celulelor musculare netede migrate din medie în intimă, capabile să sintetizeze mari cantităţi de macromolecule de colagen, elastină şi mucopolizaharide acide. Rezultă o neoformare abundentă de substanţă funadementală şi de fibre de colagen, în timp ce apariţia de fibre elastice este destul de rar întîlnită. Nu s-au descris acumulări lipidice în această fază proliferativă a procesului de îngroşare intimală. Leziunile cu caracter obstructiv apar începînd din luna a 3-a de la instituirea grefei şi sînt, din punct de vedere macroscopic, similare plăcilor fibroase din ateroscleroză. Se dezvoltă în special în zonele cu erodări ale endoteliului induse de stresul de dragare, pe aceste erodări luînd naştere microtrombi ce sînt progresiv încorporaţi în intimă. Aspectul stratificat al primelor plăci pledează pentru acest mecanism de formare (BULKLEY şi HUTCHINS 1977). Transformarea microtrombilor încorporaţi în intimă în plăci fibroase ar constitui principalul mecanism de apariţie a plăcilor în segmentele de venă safenă grefate în circulaţia coronariană. Aceste plăci nu sînt precedate de striuri lipidice sau de alte tipuri de modificări cu caracter patologic. Rapiditatea formării de microtrombi în zonele cu endoteliu erodat ale grefelor de venă safenă pare a fi neaşteptat de mare, susţinîndu-se posibilitatea apariţiei lor la numai 12 ore de la implantarea grefei. Dintre microtrombii încorporaţi în intimă 73% au prezentat un caracter neocluziv, iar 12% proeminau în lumen (BULKLEY şi HUTCHINS 1977). Acest tip de ateroscleroză „accelerată" nu a fost cunoscut pînă la instituirea metodelor moderne de revascularizare chirurgicală a miocardului. Prezenţa de plăci la 12 ore de la intervenţia chirurgicală este însă o raritate, în timp ce detectarea lor la aproximativ două luni de la operaţie apare ca o observaţie curentă (VLODAVER şi EDWARDS 1971; KERN şi col. 1972). Hipertensiunea arterială şi hipercolesterolemia ar potenţa şi grăbi această apariţie, dar mulţi autori neagă existenţa unei corelaţii între îngroşările intimale cu caracter obstructiv din segmentele de venă implantate în circulaţia coronariană şi prezenţa factorilor de risc ai cardiopatiei ischemice (FRICK şi col. 1975). Menţionăm totuşi evoluţia mai severă a leziunilor apărute în grefele de venă la pacienţii cu presiune diastolică peste 90 mm Hg, colesterolemii ce depăşesc 300 mg/100 ml şi trigliceridemii ce depăşesc 160 mg/100 ml, precum şi în prezenţa diabetului. În anumite lucrări se subliniază acţiunea deosebit de nocivă a fumului de tutun, considerată de două ori mai primejdioasă decît cea a hipertensiunii arteriale şi hipercolesterolemiei (CAMERON şi col. 1977).

Observaţii longitudinale, efectuate timp de 3 ani, au evidenţiat prezenţa plăcilor aterosclerotice la jumătate din grefele de venă safenă implantate în circulaţia coronariană (BATAYIAS şi col. 1977). Pacienţii cu astfel de leziuni erau toţi hipercolesterolemici şi în parte hipertensivi.

Din punct de vedere microscopic şi electronomicroscopic, plăcile dezvoltate în grefele de venă nu prezintă deosebiri semnificative în comparaţie cu cele apărute în arterele coronare (BARBORIAK şi col. 1978). Se consideră că în arterele coronare o parte din leziunile de la adult încep să se dezvolte încă din perioada copilăriei, necesitînd pentru maturare un interval de 2—3 decenii

Scanned with OKEN Scanner

sau mai mult. Rapiditatea apariției în numai cîteva luni, a unor leziuni similare în grefele de venă safenă implantate în circulația coronariană a surprins pe toți cercetătorii, iar explicația că textura mai laxă a intimei venelor ar permite această dezvoltare rapidă este departe de a fi satisfăcătoare. Faptul că noi am detectat plăci fibroase în coronarele de copii de numai 6 ani demonstrează că și în aceste artere timpul necesar formării leziunilor este mult mai scurt decît cel sugerat prin deducții.

În cursul ultimului deceniu, grefele de venă safenă au fost larg folosite și pentru ocolirea unor stenoze în arterele renale și femurale. Proliferările cu caracter obstructiv apar în fragmentele de venă safenă implantate în circulația renală de 15—20 de ori mai rar comparativ cu cele din circulația coronariană, iar în fragmentele implantate în artera femurală de 7—8 ori mai rar comparativ tot cu circulația coronariană (BARBORIAK și col. 1974). Întrucît tehnicile chirurgicale sînt similare pentru cele trei teritorii arteriale, factorii legați de traumatismul intraoperator nu pot fi luați în considerație. Singura variabilă semnificativă spre a explica deosebirile menționate rămîne debitul sanguin la capătul distal al grefei. În venele implantate în patul coronarian trec, prin capătul lor distal, 75—95 ml sînge pe minut, în venele implantate în patul arterei femurale 150—200 ml sînge pe minut și în venele implantate în circulația renală 300—400 ml sînge pe minut. Diametrele grefelor de venă fiind similare în toate cele trei teritorii arteriale, principalul factor aterogen apare *rezistența periferică*. În miocard, sîngele care vine prin grefa de venă safenă întîlnește rezistența cea mai mare datorită întreruperilor ritmice induse de contracția sistolică. În membrul inferior circulația este continuă, dar există o rezistență periferică mai mare decît în rinichi, care acceptă pe unitatea de timp cea mai mare cantitate de sînge. Cînd în vasele intramiocardice rezistența periferică devine atît de ridicată încît nu mai pot trece prin grefă decît cel mult 30—40 ml sînge pe minut, fluxul sanguin devine turbulent și apar stresuri aterogene adiționale, care favorizează formarea leziunilor cu caracter stenozant. Absența acestor stresuri în arterele femurală și renală ar explica raritatea îngroșărilor intimale în grefele de venă safenă și mai ales a leziunilor cu caracter obstructiv, rezultînd funcționarea îndelungată a marii majorități a acestor grefe.

C. EFECTE ATEROGENE CORELATE CU DESCĂRCĂRILE DE CATECOLAMINE

1. DATE CU CARACTER GENERAL

Catecolaminele acționează atît prin intensificarea tuturor tipurilor de stresuri hemodinamice, cît și prin efecte directe asupra celulelor, substanței fundamentale și fibrelor peretelui arterial determinînd:

— creșterea sintezei mucopolizaharidelor acide, glicoproteinelor, colagenului și elastinei în media și intima arterelor mari și mijlocii, creșteri similare putînd fi obținute și prin ridicarea valorilor tensiunii arteriale;

— mărirea numărului de legături intermoleculare în fibrele de colagen, rezultînd structuri rigide, neadaptabile din punct de vedere funcțional la distensiile bruște și la variațiile de debit sanguin;

Scanned with OKEN Scanner

— sinteza unor macromolecule de elastină bogate în aminoacizi cu grupări carboxilice, care prin polaritatea crescută a macromoleculelor favorizează procesul de calcificare;

— creşterea permeabilităţii endoteliale, rezultînd în special din contracţia celulelor endoteliale şi lărgirea spaţiilor intercelulare, cu pătrunderea în intimă a numeroase componente plasmatice şi apariţia edemului subendotelial;

— potenţarea agregării trombocitelor pe suprafeţele endoteliale, cu degranulare şi acumulare de substanţe tromboplastice;

— fisuri şi rupturi ale peretelui arterial, ce favorizează formarea trombozelor şi anevrismelor;

— apariţia unor leziuni degenerative în endotelii, celule musculare şi fibre;

— „secvestrarea" macrofagelor sanguine în intima îngroşată a arterelor;

— modificări vasomotorii şi alterări structurale în vasa vasorum;

— intensificarea acţiunii tiroxinei şi a altor hormoni asupra peretelui arterial;

— producerea de hiperlipemii şi hipercolesterolemii, prin mobilizarea masivă a acizilor graşi din depozitele organismului, cu acumulări consecutive ale esterilor de colesterol în intimele îngroşate.

Rolul aterogen al catecolaminelor a fost sugerat de asocierea valorilor crescute ale acestor substanţe în sînge, cu o incidenţă mărită a manifestărilor clinice ale cardiopatiei ischemice (DIMITRIU şi col. 1971). Aceste valori crescute ale catecolaminelor sînt incluse de anumiţi autori printre factorii de risc ai cardiopatiei ischemice (MIRNAYA 1976), avînd şi o valoare predictivă, mai ales pentru obezii tineri (POPESCU 1974).

Într-un spital în care se desfăşura o muncă „normală" de fiecare zi, catecolaminele au fost găsite în tot cursul activităţii medicale, cu 50—100% mai ridicate faţă de valorile normale (CARRUTHERS 1969). Creşteri de peste 100% s-au evidenţiat la conducătorii de automobile şi peste 1 000% la piloţii de maşini de curse sau de încercare de tipuri noi de avioane.

Emoţiile puternice, anxietatea, depresiunea psihică, insomniile rebele, supraîncordarea intelectuală, se asociază frecvent cu descărcări repetate şi prelungite de catecolamine, creîndu-se un teren favorabil apariţiei plăcilor aterosclerotice. În general, subiecţii cu muncă intelectuală intensă generatoare de descărcări de catecolamine, prezintă la examenul *post mortem* o extindere mai mare şi o evoluţie mai severă a plăcilor aterosclerotice din arterele coronare, în comparaţie cu subiecţi de sex şi vîrste similare, avînd profesiuni cu predominanţa muncii fizice (VIKHERT şi col. 1976).

Fumatul reprezintă, de asemenea, un factor important ce produce descărcări repetate de catecolamine în organism. Fumătorii au în general valori de 2—3 ori mai crescute ale catecolaminelor circulante în comparaţie cu nefumătorii şi aceste valori ridicate se menţin în tot cursul zilei la cei ce consumă peste 20 de ţigarete în decurs de 24 de ore. Dintre componentele fumului de tutun rolul cel mai important în descărcarea de catecolamine este atribuit nicotinei; ea este capabilă să stimuleze eliberarea adrenalinei şi noradrenalinei din medulosuprarenală, paraganglioni şi terminaţii nervoase. Se poate obţine o creştere a valorilor sanguine ale adrenalinei paralelă cu aceea a conţinutului în nicotină a ţigaretei fumate (HILL şi WYNDER 1974). Dacă ţigareta nu conţine nicotină, fumatul nu se însoţeşte de creşteri semnificative ale valorilor

Scanned with OKEN Scanner

sanguine ale adrenalinei. Acţiunea conjugată a nicotinei şi oxidului de carbon pare a avea caracterul cel mai aterogen, prima substanţă eliberînd adrenalina şi mărind concentraţia sanguină a acizilor graşi liberi, cea de a doua crescînd semnificativ permeabilitatea endotelială. Menţionăm, în încheiere, că aspectele microscopice ale arterelor de la fumătorii inveteraţi sînt similare celor descrise la pacienţii decedaţi subit prin feocromocitoame ce secretau catecolamine (KLINE 1961; VLIET 1966; AUERBACH şi col. 1976).

Descărcările de catecolamine au fost implicate şi în grăbirea evoluţiei cardiopatiei ischemice la pacienţi cu hiperlipoproteinemii de tipurile II şi IV (UDALOV şi col. 1975; KRIVORUŞENKO şi col. 1977).

Un nou domeniu de investigaţie privind interrelaţiile sistem nervos — catecolamine — ateroscleroză, l-au deschis cercetările care au demonstrat că procesul de aterogeneză se asociază cu o intensificare a neurotransmisiei în zonele efectoare neurovasculare (GUTSTEIN şi col. 1976).

2. MODIFICĂRI ALE PERETELUI ARTERIAL INDUSE DE ADRENALINĂ

La începutul acestui secol JOSUÉ (1903) a demonstrat posibilitatea producerii unor leziuni arteriale prin injectare de adrenalină, creînd un model experimental de o mare valoare atît pentru studiul arteriosclerozei, cît şi al aterosclerozei. Leziunea dominantă era necroza mediei, cu calcificare, hialinizare, depunere de fibrinoid, tendinţă la anevrism sau la fibroză difuză.

Studii de microscopie electronică au arătat că după administrarea de adrenalină, celulele musculare netede din peretele arterial prezintă tumefieri ale mitocondriilor, cu ruperea crestelor, dehiscenţă a membranei celulare şi mai ales rupturi ale filamentelor care ancorează celula de lamele elastice adiacente (*fig. 17*). Rezultă o dispariţie a „unităţilor" morfofuncţionale ale peretelui arterial şi implicit a acţiunilor sinergice dintre celule şi fibre, cu adaptare inadecvată la stresurile hemodinamice. Concomitent cu această „separare" dintre celule şi fibre, se schimbă şi compoziţia macromoleculară a elastinei nou formate care devine mai intens şi mai rapid calcificabilă (YU şi BLUMENTHAL 1965; YU 1967). Incapacitatea celulelor musculare netede de a mai menţine, printr-un tonus adecvat, adaptabilitatea la distensii severe ale peretelui arterial este urmată de fragmentări şi liza lamelor elastice. Concomitent cu degradarea fibrelor elastice, fibrele de colagen suferă sub acţiunea adrenalinei un proces rapid de îmbătrînire, caracterizat printr-o interconectare masivă a macromoleculelor; la baza acestui proces ar sta formarea unor legături de hidrogen la care participă adrenalina însăşi (GRANT şi ALBURN 1965). Modificări similare au fost obţinute *in vitro* tratînd colagenul cu 5—50 μM de adrenalină. Consecutiv acestei hiperstabilizări, colagenul devine mai greu degradabil atît termic, cît şi chimic, precum şi prin acţiunea enzimelor specifice. Pe măsură ce fibrele de colagen din artere suferă procesul de interconectare crescută sub acţiunea descărcărilor repetate şi prelungite de adrenalină, peretele arterelor respective devine inextensibil, îşi reduce distensia la trecerea undei pulsatile, rezultînd în acelaşi timp creşterea vitezei coloanei sanguine. Efectul final este o intensificare a stresului de dragare, formarea de eroziuni endoteliale şi pătrunderea masivă a componentelor plasmatice în intimele îngroşate. În plus, intensificarea conectării macromoleculelor consti-

Fig. 17 Aspectul electrono microscopic al modificărilor ce apar în media aortei de iepure, după administrare de adrenalină. Predomină ruperea punctelor de ancorare ale celulelor musculare pe lamele elastice; de comparat cu fig. 7. Săgeata indică un focar incipient de calcificare. Prin bunăvoinţa prof. S.Y. YU.

tutive ale fibrelor de colagen poate favoriza apariţia mai rapidă a fibrozei intimei. La aceste modificări, se mai adaugă, aşa cum am mai menţionat, tendinţa la mineralizare, la fixarea sărurilor de calciu. Sub acţiunea adrenalinei se sintetizează în peretele arterial o macromoleculă de elastină mai bogată în acizii aspartic şi glutamic, respectiv mai bogată în grupări carboxilice, apte a lega calciul şi a induce depunerea cristalelor de hidroxiapatită. Injectarea de

Scanned with OKEN Scanner

adrenalină la animalele de laborator reprezintă, de peste șapte decenii, unul dintre cele mai utile modele experimentale pentru studiul calcificării arterelor. În afara efectelor asupra fibrelor de colagen și de elastină, adrenalina produce în peretele arterial și modificări în compoziția substanței fundamentale. În doze mici potențează sinteza condroitin sulfatului și a dermatan sulfatului (LORENZEN 1959). De asemenea, sub acțiunea adrenalinei apare în peretele arterial și o creștere a sintezei de fosfolipide în celulele musculare netede (PHILIPPSON 1966).

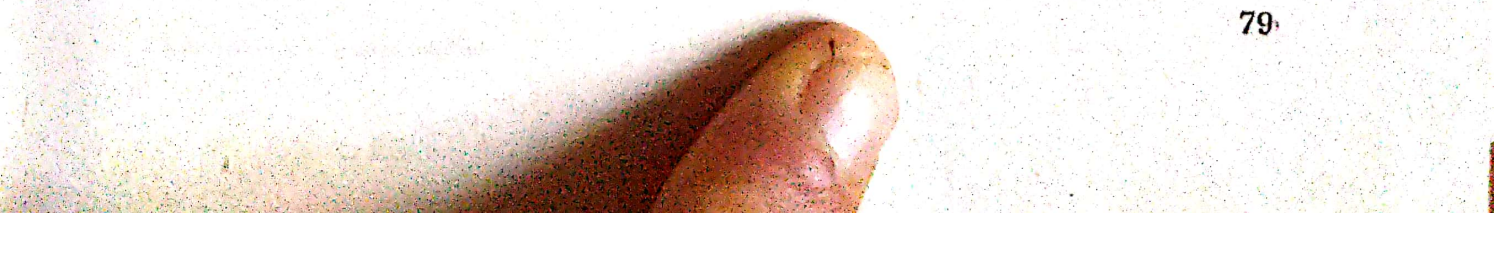
Efectele aterogene ale adrenalinei includ și modificări în comportarea trombocitelor și a metabolismului acestor celule. S-a constatat în special o creștere considerabilă a sintezei de fosfatidil inozitol, depășind de peste 5 ori sinteza normală (DEYKIN și SNYDER 1973). Această substanță este implicată în refacerea canaliculelor intracitoplasmatice, distruse în timpul procesului de degranulare, precum și a zonelor receptoare pentru ADP, existente pe suprafața trombocitelor. În doze mai mari, adrenalina adăugată la plasma bogată în trombocite, induce ea însăși agregarea lor, cu eliberare de ADP, catecolamine și serotonină. Rezultă o autoîntreținere a proceselor de aderare și degranulare a trombocitelor ce poate fi blocată prin administrare de aspirină.

D. EFECTE ATEROGENE CORELATE CU HIPERTENSIUNEA ARTERIALĂ

1. DATE INTRODUCTIVE

Importanța hipertensiunii arteriale ca factor de risc al cardiopatiei ischemice a fost prezentată în paginile anterioare. Hipertensiunea arterială este și principalul factor de risc al accidentelor vasculare cerebrale, mulți autori considerînd-o ca singurul factor care se asociază cu o incidență crescută a manifestărilor clinice ale aterosclerozei arterelor cerebrale. La lotul de 5 000 adulți urmăriți în studiul longitudinal de la Framingham, infarctul cerebral a fost de șapte ori mai frecvent la hipertensivi în comparație cu normotensivii; din 105 infarcte cerebrale, numai 10 au apărut la cazuri cu presiunea arterială sub 140/90 mm Hg (KANNEL și col. 1976 a, b).

Stabilirea pragului de trecere de la normotensiune la hipertensiune la variate grupe de vîrstă și de populații, corelat cu patrimoniul genetic, patologia geografică, modul de alimentație, standardul de viață etc., reprezintă un subiect mult discutat. Deși marea majoritate a autorilor susțin că nu se pot prezenta valori universal valabile, se consideră totuși că o presiune sistolică de 140 mm Hg și diastolică de 90 mm Hg ar putea fi acceptate ca pragul de la care începe hipertensiunea. Cînd aceste valori ajung la 160/95 mm Hg, termenul de hipertensiune ar putea fi folosit fără ezitare. Ar exista deci și valori ale tensiunii arteriale care indică doar o limită inferioară a hipertensiunii, o stare „prehipertensivă" sau „zona cenușie" ce separă normotensiunea de hipertensiune. Importanța acestor valori „limită" nu este unanim acceptată, mulți autori încadrîndu-le fie în valorile normale, fie în cele ale hipertensiunii. Din această cauză rezultatele diferitelor grupe de cercetători deși obținute la vîrste similare, nu sînt superpozabile. Se susține că un diagnostic de hipertensiune



Scanned with OKEN Scanner

arterială la limită presupune în primul rînd absența alterărilor structurale vasculare și renale. La aceste cazuri rezistența periferică apare crescută, putîndu-se evidenția și o mărire a randamentului cardiac, asociată cu o stare hiperkinetică a aparatului cardiovascular. Ar fi indusă prin mecanisme neurogene, rezultînd tahicardie și creșterea volumului bătaie, originea tahicardiei fiind mai curînd o diminuare a inhibiției produsă de parasimpatic decît o creștere a stimulării simpaticului. Cînd hipertensiunea arterială se stabilizează, rezistența periferică crescută pare a nu mai fi dependentă de mecanisme neurogene, ci de alterări structurale din vase și rinichi. Existența unor astfel de alterări devine detectabilă prin metode de laborator, și atunci formele la limită pot fi incluse în sfera hipertensiunii arteriale. În astfel de cazuri, riscul de a face accident vascular coronarian sau cerebral crește progresiv cu mărirea valorilor atît ale presiunii sistolice, cît și ale celei diastolice. Deși medicii au în general tendința de a aprecia în primul rînd caracterul predictiv al măririi valorilor presiunii sistolice, datele din literatură susțin importanța ca factor de risc atît a valorilor ridicate ale presiunii sistolice cît și a valorilor ridicate ale presiunii diastolice (KANNEL și col. 1976 a; ROSENMAN și col. 1976; JULIUS 1977).

Relațiile etiopatogenice dintre hipertensiunea arterială și ateroscleroză sînt puțin clarificate, deși au constituit un subiect de continuă preocupare (MOGA și HĂRĂGUȘ 1963; MOGA și col. 1970; MOGA și col. 1974; STEINBACH 1975; HOLLANDER 1976). Cu aproximativ un sfert de veac în urmă, s-a susținut că ambele procese morbide au o origine nervoasă centrală comună și un debut unic; la baza apariției ambelor procese ar sta o „nevroză vasculară" provocată de dezechilibre în etajele superioare ale creierului (MIASNIKOV 1954). Au fost aduse și unele date experimentale în sprijinul acestei ipoteze, demonstrînd apariția atît a hipertensiunii arteriale, cît și a unor alterări structurale în artere după lezarea hipotalamusului. În anumite modele experimentale s-au asociat și alterări ale metabolismului lipidic (TOMUȘ și col. 1970). S-a mai sugerat că hipertensiunea arterială produsă prin dereglări ale activității nervoase superioare ar induce spasme ale vaselor nutritive ale arterelor mari, rezultînd zone de ischemie în media vascularizată, cu implicații posibile în apariția leziunilor de ateroscleroză (STEINBACH 1959). În cursul ultimilor ani se pune un accent deosebit pe rolul factorilor genetici, implicați într-un mod încă puțin clarificat, în apariția hipertensiunii arteriale și a susceptibilității la ateroscleroză. Un studiu efectuat în Institutul de Medicină Internă al Spitalului Clinic Colentina a evidențiat o frecvență a hipertensiunii arteriale cu 40% mai ridicată în familiile subiecților afectați de această boală, comparativ cu familiile subiecților neafectați (STEINBACH și col. 1975).

2. MODIFICĂRI VASCULARE DE ORDIN ADAPTATIV

Adaptarea arterelor mari la stresurile hemodinamice intensificate prin apariția hipertensiunii arteriale este dependentă de gradul lor de elasticitate. Acest grad poate fi calculat cu ajutorul unui „modul" de elasticitate, care reflectă raportul dintre stresul hemodinamic (forța care deformează peretele pe unitatea de suprafață de secțiune) și agresiunea produsă (deformarea peretelui). Modulul de deformare lineară este cunoscut sub denumirea de „modulul

Scanned with OKEN Scanner

Young"; el exprimă rezistența la întindere a peretelui arterial, ce poate fi astfel exprimată:

$$Y = \frac{\text{forță/unitate de suprafață de secțiune}}{1/1_0}$$

(Y, modulul Young; 1, lungimea după întindere; 1_0, lungimea înainte de întindere).

Modificările induse de apariția hipertensiunii arteriale pot fi detectate prin formulele:

$$Y = \frac{\text{presiune} \times \text{raza vasului}}{\text{grosimea peretelui arterial} \times (C/C_0)}$$

(C, creșterea circumferinței arterei; C_0, circumferința arterei existentă înaintea punerii lamelor elastice sub tensiune)

$$Y = \frac{\text{presiune} \times \text{raza vasului}}{2 \times \text{grosimea peretelui arterial} \times (1/1_0)}$$

(1, lungimea după acțiunea stresului în direcție longitudinală; 1_0, lungimea înainte de acțiunea stresului în direcție longitudinală).

În aortă, la aceeași presiune arterială, elasticitatea în direcția circumferențială este de trei ori mai mare decît cea în direcție longitudinală, sugerînd bogăția de lame elastice cu orientare circulară. Artera carotidă, dimpotrivă, prezintă o elasticitate mai mare în direcție longitudinală decît în cea circulară, iar artera circumflexă a coroanei stîngi poate fi mai ușor și mai mult destinsă în direcție circumferențială (PATEL și JANIKI 1970). Cu cît hipertensiunea arterială se agravează, aorta și artera circumflexă pierd capacitatea de a fi destinse circumferențial, iar artera carotidă în sensul longitudinal. Ambele tipuri de modificări duc la creșterea vitezei coloanei de sînge și mai ales la intensificarea stresului de dragare cu pericolul apariției eroziunilor endoteliale.

Alterînd țesutul elastic și intensificînd neoformarea de fibre de colagen, hipertensiunea arterială modifică în sens patologic modulii peretelui arterial. La *normotensivi*, modulul de elasticitate al aortei, reflectat de comportamentul lamelor din media vasului este de 3×10^6 dine/cm^2, iar fibrele de colagen, considerate izolat, au un modul de elasticitate de 1×10^6 dine/cm^2 (ROACH și BURTON 1957). Datorită acestei diferențe, posibilitatea de întindere a lamelor elastice este limitată, întrucît intervine inextensibilitatea fibrelor de colagen care opresc procesul de distensie atît în direcție circulară, cît și longitudinală. Importanța acestui dispozitiv de siguranță apare evidentă în experimentele în care fibrele de colagen sînt degradate prin digestie cu colagenază; extensibilitatea vasului crește cu peste 40% fără mărirea concomitentă a intensității stresurilor hemodinamice.

Cînd tensiunea arterială se menține între limitele normale adaptarea la stresurile hemodinamice este dominată în arterele mari de comportamentul lor elastic, permițînd pătrunderea în aortă a întregului volum de sînge evacuat din ventriculul stîng. Această adaptare poate fi corelată cu funcția de rezervor a acestui vas, ea efectuîndu-se fără participarea fibrelor de colagen care, înfășurate „în tirbușon" în jurul celor elastice, nu ajung să fie întinse pînă la capacitatea lor maximă de distensie.

La hipertensivi, comportamentul vasului se modifică semnificativ, datorită solicitării tot mai mari a fibrelor inextensibile de colagen. Înmulțirea fibrelor de colagen reprezintă o modalitate adaptativă a arterelor la creșterile

Scanned with OKEN Scanner

peste normal ale presiunilor sistolice și diastolice, rezultînd o rezistență mai mare la tracțiune și o distensibilitate mai redusă la trecerea undei pulsatile. Deși țesutul elastic continuă să fie prezent cu un mare număr de fibre și lame, iar uneori se produc și neoformări de fibre elastice, ele nu mai au posibilitatea de a se manifesta funcțional datorită limitelor de întindere impuse de fibrele inextensibile de colagen.

În anumite modele experimentale, înmulțirea numărului de fibre de colagen din artere a apărut ca principala particularitate a remodelării vasului la creșterea presiunii arteriale (OOSHIMA și col. 1974, 1975). Celulele musculare netede din peretele arterial sintetizează cantități mari de macromolecule de colagen atît sub influența unor valori crescute ale presiunii sistolice, cît și diastolice. În schimb, celulele musculare netede din peretele venelor nu prezintă aceeași capacitate mărită de sinteză, dacă se produce o hipertensiune venoasă experimentală (IWATSUKI și col. 1977).

În coarctația experimentală a aortei de iepure apare o creștere importantă a cantității de colagen doar în zona din *amonte* de constricție, unde presiunea arterială este ridicată, în timp ce în zona din *aval*, cu presiune arterială coborîtă, numărul de fibre de colagen rămîne nemodificat. La om, de asemenea, subiecții cu coarctația aortei prezintă o înmulțire considerabilă a numărului de fibre de colagen în zona segmentului proximal coarctației (ROBBINS 1967). S-a mai demonstrat, în arterele animalelor cu hipertensiune arterială experimentală sau spontană, o intensificare a activității prolil hidroxilazei (EC 1.14.11.2), reflectînd sinteza crescută de colagen (OOSHIMA și col. 1974). Apare mărită și încorporarea de prolină marcată în colagenul neoformat, test ce reflectă aceeași potențare a sintezei macromoleculelor de colagen. Dacă se administrează substanțe antihipertensive de tipul clorotiazinei sau rezerpinei, toate testele care indicau o sinteză mărită a colagenului se normalizează. În *tabelul II* prezentăm rezultatele unei investigații experimentale privind corelația dintre presiunea sistolică din aortă și cantitățile de colagen și de elastină din peretele acestui vas la șobolan (WOLINSKY 1970 a). Se poate constata o creștere paralelă cu presiunea arterială a greutății totale uscate a aortei, precum și a cantităților de colagen și de elastină. În anumite condiții experimentale s-a demonstrat o creștere a sintezei de proteine fibroase cu aproximativ 0,05 mg pe săptămînă dacă presiunea intraluminală a acționat cu o forță de 10 000 dine/cm² lamă elastică (WOLINSKY 1970 a); în condiții fiziologice, presiunea intraluminală este la șobolan de aproximativ cinci ori mai mică.

Dintre mucopolizaharidele acide existente în peretele arterial, hiptrtensiunea arterială ar potența în primul rînd sinteza heparan sulfatului (ECKERT și col. 1971). Intensificarea sintezei mucopolizaharidelor acide a fost evidențiată în hipertensiunea arterială provocată de stimuli neurogeni, mineralocorticoizi, alterări renale experimentale, perfuzii cu angiotensină etc. Aceasta ar sugera că este vorba de o reacție nespecifică, legată numai de creșterea valorilor tensiunilor sistolice și diastolice.

Bogăția mai mare a peretelui arterial în fibre de colagen și substanță fundamentală la hipertensivi, în comparație cu normotensivii, modifică comportamentul general al acestui perete față de stresurile hemodinamice. La normotensivi trecerea de la predominanța distensibilității determinată de răspunsul lamelor elastice, la predominanța inextensibilității determinată de răspunsul fibrelor de colagen, apare gradat, de-a lungul unei creșteri lineare a presiunii

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL II

Corelaţia dintre presiunea sistolică şi cantităţile de elastină şi de colagen din media aortei de şobolan (după WOLINSKY 1970, a, cu permisiunea editurii Associeted Scientific Publishers-Elsevier, Amsterdam)

Media presiunii sistolice (mmHg)	Greutatea totală a aortei (mg, ţesut uscat)	Elastină		Colagen		Elastină şi colagen % din greutatea totală
		(mg)	% din greutatea totală	(mg)	% din greutatea totală	
			normotensivi			
110	4.96	2.23	44,9	0,72	14.5	59.4
110	5.26	2.14	40.6	0.68	12.8	53.4
115	5.25	1.76	33.5	0.69	13.1	46.6
105	5.58	2.20	39.0	0,83	14.3	53.3
110±2	5.26±0.13	2..08±0.11	39.5±2.4	0.73±003	13.7±0.4	53.2±2.6
			hipertensivi			
205	8.12	2.94	36.2	1.68	20.7	56.9
175	7.50	2.70	36.0	1.52	20.3	56.3
195	7.00	2.86	41.6	1.44	20.6	62.2
200	6.50	2.78	42.8	1.06	16.3	59.1
194±7	7.28±0.35	2.82±0.5	39.2±1.8	1.43±0.13	19.5±1.1	58.6±1.3
P <0.001	P <0.01	P <0.001	P <0.05	P <0.01	P <0.01	P <0.05

intraluminale; la hipertensivi, trecerea apare brusc, indusă de diferenţe foarte mici ale valorilor presiunilor sistolice şi diastolice.

O modificare vasculară de ordin adaptativ cu importante implicaţii în aterogeneză este *creşterea permeabilităţii endoteliale*. Hipertensiunea arterială ar produce o contracţie a celulelor endoteliului arterelor mari şi mijlocii, cu lărgirea spaţiilor şi joncţiunilor intercelulare. La şobolanii cu hipertensiune arterială experimentală, ridicarea presiunii sistolice la 160 mm Hg a determinat o creştere a numărului de miofilamente în celulele endoteliale, cu diametre între 40 şi 70 Å acumulate în vecinătatea joncţiunilor intercelulare (GABBIANI şi col. 1975). Contracţia acestor miofilamente, cu diminuarea diametrelor transversal şi longitudinal al celulelor, poate fi considerată ca un mecanism principal al creşterii permeabilităţii endoteliale indusă de hipertensiunea arterială. Ca urmare a acestui proces adaptativ, unele celule endoteliale din aorta şobolanilor cu hipertensiune arterială experimentală pot prezenta un aspect electrono-microscopic apropiat de cel al celulelor musculare netede din media aceluiaşi vas. Tot la şobolani, ligatura aortei între arterele renale a produs o hipertensiune arterială asociată în primele 6—7 zile cu valori ridicate ale reninei plasmatice, iar mai tîrziu, către ziua a 40-a, cu valori foarte coborîte ale aceleiaşi substanţe. În perioada de concentraţie ridicată a reninei în plasmă, celulele endoteliale au apărut hipertrofiate şi conţineau fascicole de miofilamente, permeabilitatea endotelială fiind şi ea mult crescută. În perioada cu valori scăzute ale reninei în plasmă, celulele endoteliale şi-au reluat aspectul aplatizat obişnuit, acumulările intracitoplasmatice de miofibrile au dispărut, iar permeabilitatea endotelială a diminuat considerabil (GABBIANI şi col. 1977). Rezultatele ar sugera un mod diferit de reacţie a celulelor endoteliale în funcţie de valorile plasmatice ale reninei. În sfîrşit, mai menţionăm înmulţirea considerabilă a miofilamentelor în celulele endoteliale ale arterelor cerebrale la un pacient cu hipertensiune arterială malignă (BECKER şi HARDY 1973).

Scanned with OKEN Scanner

Hipertensiunea arterială, intensificînd stresurile hemodinamice şi în special pe cel de dragare, mai produce o creştere numerică şi o extindere în suprafaţă a zonelor cu descuamări şi erodări ale celulelor endoteliale. Aceste zone devin intens permeabile pentru componenţi plasmatici, fiind rapid străbătute în condiţii experimentale de particule de cărbune şi fier coloidal (JELLINEK şi col. 1969). Erodări endoteliale, urmate de o creştere semnificativă a permeabilităţii au fost obţinute şi sub acţiunea angiotensinei (FUCHS şi col. 1974).

Înainte de descuamare, celulele endoteliale supuse acţiunii stresurilor hemodinamice intensificate de hipertensiunea arterială, prezintă o creştere a numărului cisternelor reticulului endoplasmic, tumefieri ale mitocondriilor, o citoplasmă cu aspect mai dens. Numărul de vezicule de pinocitoză se măreşte considerabil, iar fagocitoza pare stimulată (HÜTTNER şi col. 1970). Modificări similare au fost observate după administrare de angiotensină (KOLETSKY şi PUTERMAN 1977). Zonele erodate se reendotelializează foarte lent dacă hipertensiunea arterială persistă, premiţînd pătrunderea, pe intervale mari de timp, a unor macromolecule de tipul lipoproteinelor şi fibrinogenului, ce se acumulează în intimele îngroşate. În prezenţa unei hipertensiuni arteriale de lungă durată, zonele cu endoteliul erodat devin sediul formării de tromboze, la început prin acumulări trombocitare, ulterior prin stabilizarea trombocitelor de către reţelele de fibrină.

3. ACCELERAREA APARIŢIEI ŞI EVOLUŢIEI LEZIUNILOR

Hipertensiunea arterială grăbeşte apariţia leziunilor de ateroscleroză, măreşte numărul acestor leziuni şi gradul lor de severitate; pe de altă parte, ateroscleroza transformă în procese patologice anumite reacţii de adaptare ale peretelui vascular la hipertensiunea arterială. Din această intercondiţionare, ambele boli apar cu o evoluţie mai rapidă şi mai severă, atît sub aspect lezional, cît şi al manifestărilor clinice.

Efectele cele mai aterogene ale hipertensiunii arteriale se explică prin intensificarea stresurilor hemodinamice şi în special a celui de dragare, rezultînd eroziuni endoteliale mai întinse şi mai numeroase decît în absenţa hipertensiunii. În plus, eliberarea periodică, la hipertensivi, de catecolamine şi angiotensină în cantităţi crescute, constituie un mecanism adiţional de creştere a permeabilităţii prin contracţia celulelor endoteliale. Intensificarea stresului de dragare ar fi responsabilă, cel puţin în parte, de apariţia şi a unei intime îngroşate la hipertensivi, în arterele de toate diametrele, precum şi în arteriole. Se creează astfel o rezistenţă periferică crescută, în special cînd îngroşările intimale din arterele mici şi mijlocii au un caracter stenozant. Rezistenţa periferică mărită impune sporirea forţei de contracţie a ventriculului stîng, reflectată de valorile ridicate ale presiunii sistolice. Tensiunea mărită din cavitatea ventriculului stîng se transmite şi peretelui cordului, fiind necesar, pentru această muncă suplimentară, un număr mai mare de celule miocardice cu capacitate contractilă nealterată. Hipertrofia masei musculare a ventriculului stîng implică, la rîndul ei, o mărire a reţelei capilare şi implicit a debitului coronarian. Această mărire apare cu atît mai necesară, cu cît creşte semnificativ şi nevoia de oxigen a miocardului, care nu poate fi satisfăcută decît prin mărirea aportului sanguin pentru fiecare celulă contractilă. De cele mai multe ori,

Scanned with OKEN Scanner

concomitent cu aceste solicitări miocardice se produc şi îngroşări intimale ale vaselor intramiocardice datorită tot hipertensiunii arteriale. Rezultă un dezechilibru între nevoile de oxigen şi aportul de oxigen, nevoile crescînd progresiv cu masa musculară miocardică şi cu mărirea forţei ei de contracţie, iar aportul reducîndu-se progresiv cu apariţia îngroşărilor intimale cu caracter stenozant. Acest dezechilibru se poate manifesta prin apariţia semnelor clinice de angină pectorală, prin agravarea unei angine preexistente sau prin alte manifestări de ischemie miocardică. În masa musculară a cordului, dezechilibrul între cererea şi oferta de oxigen duce la scăderea treptată a forţei de contracţie, cu pericolul dezvoltării unei insuficienţe cardiace congestive. În lumina acestor date, insuficienţa cardiacă congestivă, insuficienţa renală, hemoragiile subarahnoidiene, anevrismele disecante şi simpla hipertrofie a ventriculului stîng, pot fi considerate complicaţii ale hipertensiunii arteriale „pure"; pe de altă parte, cardiopatia ischemică şi mai ales manifestările clinice de angină pectorală, ar apare drept complicaţii ale hipertensiunii arteriale „aterosclerotice" (HOLANDER 1976). În cadrul acestor complicaţii ale hipertensiunii arteriale „aterosclerotice", ar mai intra accidentele tromboembolice, arteritele periferice, stenoza arterei renale şi anumite anevrisme alte aortei. Hipertensiunea arterială „aterosclerotică" determină, prin intermediul îngroşării intimei din arterele mari şi mijlocii, o stare cronică de hipoxie, ce atinge intensitatea maximă la graniţa dintre intima şi media acestor artere. La acest nivel apar frecvent procese degenerative şi necrotice ce pot reprezenta punctul de plecare al dezvoltării ateroamelor. În sprijinul ipotezei menţionate pledează rezultatele unor cercetări experimentale care au evidenţiat, sub acţiunea hipertensiunii arteriale, o potenţare a activităţii enzimelor hidrolitice din lizozomii celulelor musculare netede din peretele arterial. Această potenţare ar fi consecinţa pătrunderii unor cantităţi crescute de componente plasmatice, ca urmare a erodării anumitor zone ale suprafeţei endoteliale sau a contracţiei prelungite a celulelor endoteliale. Dintre componentele plasmatice pătrunse în intimă stimularea cea mai pronunţată a activităţii hidrolitice a enzimelor lizozomale ar fi indusă de esterii de colesterol ce se acumulează în respectivii lizozomi (WOLINSKY şi col. 1975). Cînd acumularea este foarte mare, apar aspecte de autofagie; necroza celulelor musculare netede se produce mai repede şi este mai severă în condiţiile existenţei unei hipoxii locale rezultînd din îngroşarea intimală excesivă. Aceste date experimentale explică de ce hipertensivii, avînd intima arterelor mult îngroşată, fac mai rapid leziuni cu caracter necrozant în comparaţie cu normotensivii. Literatura de specialitate conţine numeroase dovezi privind accelerarea apariţiei leziunilor de ateroscleroză şi a evoluţiei lor sub acţiunea hipertensiunii arteriale experimentale la iepure, şobolan, şoarece, cîine, maimuţe, pui de găină, porumbei etc. În toate aceste experimente, hipertensiunea arterială nu s-a asociat şi cu creşterea valorilor colesterolemiei, dar a determinat o reţinere mărită a esterilor de colesterol în intimele îngroşate ale arterelor. S-a mai constatat în plus apariţia, sub acţiunea hipertensiunii arteriale, a leziunilor de ateroscleroză în teritorii vasculare rezistente la formarea unor astfel de leziuni la animalul normotensiv. Astfel, la şobolanii ţinuţi timp de 3 luni la o dietă conţinînd 5% colesterol şi 40% gălbenuş de ou nu apar leziuni importante în arterele coronare; la şobolanii deveniţi hipertensivi înaintea administrării dietei, s-au dezvoltat plăci fibroase în arterele coronare la numai 1—2 luni de la începutul experimentului (KOLETSKY şi col. 1968).

Scanned with OKEN Scanner

Un aspect particular rezultînd din asocierea hipertensiunii arteriale cu ateroscleroza îl reprezintă diseminarea în sens centrifug a proceselor patologice, aspect menţionat în capitolul I. La numeroase animale de laborator, leziunile de ateroscleroză experimentală nu afectează decît arterele mari, dar după producerea unei hipertensiuni experimentale afectarea se extinde şi la artere mijlocii şi mici. Tendinţa la diseminare centrifugă a leziunilor este precedată de îngroşarea intimală ce constituie patul adecvat dezvoltării acestor leziuni. Devin astfel susceptibile la ateroscleroza experimentală teritorii vasculare care, la animalul normotensiv, nu sînt afectate, indiferent de valorile colesterolemiei. Îngroşarea intimei se asociază, într-o primă fază, cu îngroşarea mediei; ulterior, media suferă un proces de fibroză care se extinde treptat şi la intima îngroşată. Fibroza se asociază cu depunere de fibrinoid, hialin şi săruri de calciu. Rezultă modificări ale geometriei vasului, ale poziţiei punctelor de emergenţă şi în final apariţia unor stresuri hemodinamice adiţionale cu caracter aterogen. Diseminarea centrifugă a leziunilor de ateroscleroză sub acţiunea hipertensiunii arteriale a fost evidenţiată şi la om, primele ipoteze fiind sugerate cu trei decenii în urmă (BAURLE 1950).

O altă modificare indusă de hipertensiunea arterială, descrisă cu peste un secol în urmă, include variate tipuri de alterări ale ţesutului elastic al arterelor, frecvent implicate în histogeneza plăcilor aterosclerotice.

În sfîrşit menţionăm şi asocierea hipertensiunii arteriale cu apariţia plăcilor gelatinoase în intimele îngroşate. Animale normotensive, supuse unor diete bogate în colesterol prezintă striuri lipidice în arterele mari. Animale cu hipertensiune provocată experimental, ţinute la aceeaşi dietă aterogenă, suferă un proces mult mai marcat de îngroşare intimală iar în intimele mult îngroşate se dezvoltă plăci gelatinoase. Acestea nu conţin acumulări de celule spumoase bogate în lipide ci doar mici depuneri de fosfolipide în jurul fibrelor de colagen şi ar prezenta o tendinţă la organizare conjunctivă, avînd ca rezultat formarea plăcilor fibroase. Includerea plăcii gelatinoase în tabloul anatomo-patologic al hipertensiunii arteriale (TRILLO şi col. 1974) nu este larg acceptată, rămînînd un subiect controversat şi rolul ei de precursor al plăcii aterosclerotice (HAUST 1971; SMITH şi SMITH 1976).

Problemele legate de interrelaţiile dintre ateroscleroză şi hipertensinnea arterială, privite mai ales sub aspect etiopatogenic vor mai fi discutate în capitolele ce urmează.

În încheierea acestei prezentări, dorim a sublinia, în lumina datelor deja menţionate, importanţa ce trebuie acordată caracterului aterogen al hipertensiunii arteriale. A pune pe un plan secundar efectele nocive ale asocierii hipertensiunii arteriale cu ateroscleroza, considerînd că aceasta din urmă este prin excelenţă o boală „degenerativ-metabolică", înseamnă a ignora un imens material faptic a cărui valabilitate nu mai poate fi astăzi contestată. *Gravitatea deosebită a hipertensiunii arteriale ca factor de risc a aterosclerozei constă în potenţarea stresurilor hemodinamice cu caracter aterogen, şi în permanenţa acţiunii acestor stresuri aterogene.* În consecinţă, efectele nocive ale hipertensiunii arteriale asupra peretelui arterial sînt mult mai întinse şi mai severe decît cele produse prin descărcări de catecolamine sau de substanţe ce ridică doar temporal peste normal nivelul presiunilor sistolice şi diastolice. Se impune deci *depistarea hipertensiunii arteriale încă din perioada copilăriei şi tratarea ei prin mijloace terapeutice adecvate.*

Scanned with OKEN Scanner

III. ROLUL ATEROGEN POTENȚIAL AL COMPONENTELOR PERETELUI ARTERIAL

A. PARTICULARITĂȚILE METABOLICE ALE ARTERELOR

1. DATE INTRODUCTIVE

Peretele arterelor mari și mijlocii este un „organ" adaptat:

— distensiilor ritmice induse de trecerea undei pulsatile;

— tracțiunilor și presiunilor exercitate de coloana de sînge în mișcare;

— agresiunilor induse de stresul de dragare;

— menținerii unui tonus adecvat spre a contracara variațiile presiunii intraluminale;

— asigurării trecerii prin intimă și medie, fără tendințe la acumulări patologice, a componentelor plasmatice ce străbat bariera endotelială;

— participării la metabolismul general al glucidelor, proteinelor și lipidelor;

— producerii de răspunsuri modelatoare și reparatoare la variate tipuri de agenți nocivi.

Centrele metabolice, de menținere a tonusului și de reacție la agresiuni sînt reprezentate de celulele musculare netede din media și intima arterelor. Aceste celule își desfășoară activitatea în condiții particulare de oxigenare și aport a substanțelor nutritive, datorită caracterului avascular al intimei și jumătății interne a mediei. În aortă și arterele coronare, acest teritoriu avascular se întinde pe distanțe variind între 0,3 și 1,3 mm de la lumen spre adventice. În consecință peste 2/3 din peretele arterial este dependent din punct de vedere metabolic, de circulația componentelor plasmatice ce traversează bariera endotelială, îndreptîndu-se spre limfaticele din adventicea arterei. Variațiile gradului de permeabilitate a endoteliului, precum și lungimea drumului parcurs de componentele plasmatice pînă la celule, au o influență considerabilă asupra metabolismului peretelui arterial. S-a sugerat existența unei grosimi „critice" a intimei, peste care aportul de apă, electroliți, glucoză și oxigen devin inadecvate, rezultînd alterări celulare ce pot merge pînă la apariția unor focare de necroză. La om, această grosime „critică" a fost arbitrar considerată de 0,8 mm (DAOUD și col. 1964), depășirea ei fiind frecvent asociată cu

Scanned with OKEN Scanner

necroza celulelor musculare netede de la graniţa dintre intimă şi medie. Aportul de substanţe nutritive şi de oxigen necesare metabolismului celulelor musculare netede este condiţonat şi de echilibrul labil dintre presiunea de filtrare de la nivelul endoteliului şi presiunea capilară existentă în jumătatea externă a mediei, vascularizată prin *vasa vasorum*. Zona unde se echilibrează cele două presiuni, prima de tip arterial, a doua de tip capilar, variază de la un segment arterial la altul. Limitele ei par a fi continuu influenţate de: valorile presiunii intraluminale şi intensitatea stresului de dragare, ambele mărind permeabilitatea endotelială; integritatea structurală a endoteliului şi a zonei subendoteliale; permeabilitatea substanţei fundamentale din intimele îngroşate; obstacolele reprezentate de lame şi limitante elastice, precum şi de fibre de colagen; numărul şi calibrul vaselor nutritive ce vin prin adventice etc. Aceste acţiuni complexe explică existenţa, la graniţa dintre intimă şi medie, atît a unor zone de hipoxie trecătoare, cît şi a unor zone permanente de hipoxie, ultimile fiind evidenţiate în locurile unde se dezvoltă cu predilecţie plăcile aterosclerotice.

În afara existenţei acestor zone de hipoxie, trecerea de la procese de remodelare şi reparare spre procese patologice mai este favorizată, în peretele arterial de absenţa perioadelor de „linişte". Spre deosebire de alte ţesuturi şi organe, reparările şi cicatrizările în intimele îngroşate se desfăşoară sub traumatismul ritmic al undei pulsatile, a cărei forţă de distensie este cu atît mai mare cu cît vasul respectiv se găseşte mai aproape de cord. Acest traumatism ritmic ar constitui un factor adiţional, alături de hipoxie, pentru evoluţia spre necroză şi ulceraţii.

Din punct de vedere fizico-chimic, peretele arterial include coloizi, electroliţi şi apă. Coloizii intră în organizarea celulelor, substanţei fundamentale şi fibrelor, a căror proporţie într-o arteră mare, de conducere, bogată în ţesut elastic este prezentată în *tabelul III*. Tabelul are doar o valoare orientativă, *paternul* macromolecular al arterelor variind cu teritoriul investigat, precum şi în funcţie de vîrstă, sex, specie, constelaţie endocrină, nivelul presiunilor sistolice şi diastolice etc. O particularitate a peretelui arterial, în comparaţie cu ficatul, rinichiul, creierul, muşchiul striat, miocardul etc. o constituie numărul redus de celule în raport cu abundenţa substanţei fundamentale şi a fibrelor. În arterele mari, peste 80% din conţinutul peretelui arterial este format din lame elastice, fibre de colagen şi substanţă fundamentală, proporţia reducîndu-se la aproximativ 50% în arterele mijlocii şi mici.

TABELUL III

Aspecte comparative privind compoziţia macromoleculară a aortei şi venei cave (după BUDDECKE şi KRESSE 1969, cu permisiunea editurii Karger, Basel)

Macromolecule:	% din greutatea uscată	
	aorta abdominală	vena cavă inf.
colagen	37.0	30.0
elastină	31.0	18.0
lipide totale	6.3	5.0
mucopolizaharide acide	1.5	0.2
glicogen şi glicoproteine	0.7	2.5

Scanned with OKEN Scanner

Cercetările din cursul ultimilor ani, atribuie tot mai mult peretelui arterial caracterele unui „organ specializat", cu largi posibilităţi de participare la metabolismul glucidelor, protidelor şi lipidelor. Referindu-ne doar la această ultimă grupă de substanţe, frecvent implicată în patogenia aterosclerozei, se poate susţine participarea peretelui arterial la:

— transportul lipoproteinelor din lumenul vasului în zona subendotelială, respectivele macromolecule străbătînd bariera endotelială prin vezicule de pinocitoză, sau trecînd prin spaţiile intercelulare lărgite ca urmare a contracţiei celulelor endoteliale;

— transportul lipoproteinelor pătrunse în zona subendotelială spre limfaticele din adventice, cu acumularea anumitor tipuri de lipoproteine spre zonele bogate în celule avînd pe suprafaţa membranei lor receptori specifici pentru aceste macromolecule;

— cuplarea lipoproteinelor cu receptorii specifici de membrană, pătrunderea intracelulară prin vezicule de pinocitoză şi inhibarea sintezei intracelulare a colesterolului;

— degradarea lipoproteinelor în veziculele lizozomale şi esterificarea colesterolului liber cu acid oleic sintetizat în mitocondrii;

— folosirea colesterolului liber în exces pentru includerea în membrane şi eliminarea lui din celulă cu ajutorul macromoleculelor de lipoproteine specializate în transportul lipidelor de la ţesuturi spre ficat;

— menţinerea unui timp optim de contact între macromoleculele de lipoproteine nepătrunse în celulă pe de o parte, substanţa fundamentală şi fibre, pe de altă parte, împiedicîndu-se astfel acumulările lipidelor în interstiţii;

— sinteză de fosfolipide, colesterol, acizi graşi şi trigliceride, corelată cu necesităţile locale şi generale şi a enzimelor implicate în metabolismul acestor clase de lipide.

Pentru efectuarea acestor procese metabolice complexe, peretele arterial consumă energie. În plus este necesar un numit consum de energie şi pentru menţinerea tonusului muscular, pentru contracţia celulelor musculare corelată cu reglarea debitului sanguin local şi pentru înmulţirea celulelor musculare din inimă şi medie. În consecinţă, problema furnizării energiei şi a eficienţei folosirii ei a devenit una din problemele cheie pentru înţelegerea etiopatogeniei aterosclerozei.

S-a sugerat că ateroscleroza, ca şi alte boli cronice degenerative, ar apare ca o consecinţă a perturbării proceselor de homeostazie, pe primul plan situîndu-se dereglarea controlului central asupra marilor mecanisme de reglare a adaptării (neuroendocrin, molecular, genetic, informaţional). Apariţia leziunilor ar reflecta deficienţe în coordonarea acestor mecanisme de adaptare la solicitările unor factori aterogeni ai mediului extern sau/şi intern (BALTA, CĂPÂLNĂ şi ORHA 1977). Consecinţele acestei dereglări s-ar resimţi la nivelul peretelui arterial mai ales pe linia furnizării de energie şi utilizării ei eficiente.

Obţinerea şi conservarea energiei în celulele musculare netede din peretele arterial ar include: a) conversiunea glicolitică în piruvat, lactat, compuşi macroergici şi anumiţi echivalenţi reductori; b) trecerea în cadrul ciclului Krebs a piruvatului în CO_2, hidrogenului sub forma fracţiilor de coenzime reduse şi formarea din nou a unei macromolecule de ATP bogată în energie; c) conversiunea oxidativă a acestor variaţi echivalenţi reductori în H_2O, cu conservarea energiei libere sub formă de compuşi macroergici.

Scanned with OKEN Scanner

În peretele arterial, ca și în alte organe și țesuturi, interdependența metabolismului glucidic, protidic și glucidic are la bază existența acetatului activ. El este folosit pentru eliberarea de energie, pentru conservarea energiei, cît și pentru sinteza de substanțe specifice. Date amănunțite asupra acestor interrelații au fost recent prezentate într-o monografie privind dinamica proceselor metabolice în ateroscleroză (BALTĂ și col. 1977).

2. PREVALENȚA GLICOLIZEI ANAEROBE

În peretele arterial normal aproximativ 40% din energie ar proveni din glicoliza anaerobă și 60% din fosforilare oxidativă (SCOTT și col. 1970). Aceste proporții au doar o valoare orientativă, variind în funcție de grosimea intimei, aportul transintimal de oxigen și substanțe nutritive, capacitatea metabolică a celulelor musculare etc. Odată cu dezvoltarea leziunilor de ateroscleroză proporția de energie furnizată prin glicoliza anaerobă crește, mărindu-se paralel cu evoluția acestor leziuni.

Metabolismul arterelor mari și mijlocii este caracterizat prin utilizarea unor cantități considerabile de glucoză, producerea unor mari cantități de acid lactic și folosirea redusă a oxigenului, chiar atunci cînd el se găsește în concentrații ridicate. În comparație cu ficatul, de exemplu, rata de utilizare a oxigenului este, în peretele arterial, de peste zece ori mai mică. Incapacitatea celulelor musculare netede din peretele arterial de a folosi oxigenul cînd există în concentrații adecvate (lipsa efectului Pasteur), reflectă un defect genetic caracterizat printr-o mare dependență a acestor celule de glicoliza anaerobă. Această capacitate redusă de producere a energiei prin fosforilare oxidativă, cuplarea inadecvată a fosforilării cu transportul de electroni în mitocondrii și folosirea inadecvată a ATP-ului, se transmite din generație în generație la animalele susceptibile la ateroscleroza spontană.

Cele mai numeroase investigații în acest domeniu au fost efectuate, sub aspectul unor studii comparative, pe rasele de porumbei susceptibile (White Carneau) și rezistente (Show Racer) la ateroscleroză. S-a constatat că păsările din rasa susceptibilă la ateroscleroză se nasc cu o deficiență în activitatea dehidrogenazelor lipoamidice și malice, contrastînd cu o activitate mult crescută a fosfofructokinazei și aldolazei. Drept urmare, în aorta rasei susceptibile, în comparație cu rasa rezistentă, se produce o cantitate mai mică de citrat și de ATP. Deficiența în activitatea lipoamid dehidrogenazei diminuă posibilitatea conversiunii piruvatului în oxalacetat și în consecință oxidarea glucozei pe calea ciclului Krebs. Activitatea crescută a fosfofructokinazei, apărînd tot ca un factor condiționat genetic, potențează și mai mult devierea metabolică spre glicoliza anaerobă. Un raport diminuat ATP/ADP și o creștere a concentrației AMP-ului ciclic reprezintă un alt factor ce intensifică și mai mult activitatea enzimei, această activitate atingînd valorile maxime cînd hipoxia devine severă. Concomitent crește și rata glicolizei în producerea de energie, cu blocarea activității ciclului Krebs (ZEMPLENYI și ROSENSTEIN 1975). S-a mai constatat că la rasa susceptibilă la ateroscleroză activitatea ATP-azei scade cu înaintarea în vîrstă, în timp ce la rasa rezistentă crește, observațiile fiind efectuate la emergența trunchiului celiac unde, în mod spontan se dezvoltă plăci aterosclerotice la rasa susceptibilă (HAJJAR și SMITH 1978). Se poate astfel deduce o incapacitate crescîndă de obținere a energiei

Scanned with OKEN Scanner

prin mecanisme oxidative a celulelor din zona unde vor lua naştere plăcile aterosclerotice, o deficienţă de cuplare a fosforilării oxidative cu transportul de electroni şi într-un stadiu final, o eliminare deficitară a materialelor acumulate în aceste celule.

După cum am mai menţionat, mărirea ratei glicolizei se însoţeşte de acumularea unor cantităţi nefiziologice de acid lactic, modificînd pH-ul tisular şi influenţînd în mod negativ activitatea celulelor musculare. La variate animale s-au detectat în peretele arterial, concentraţii de acid lactic între 0,59 şi 1,83 µl/mg ţesut (SUDHOF 1950; BEACONSFIELD 1962). Această acumulare creşte cu înaintarea în vîrstă, viţelul de exemplu producînd 7,25 µM acid lactic/g perete aortic/oră, în comparaţie cu 8,61 µM la animalul în vîrstă (MANDEL 1962). Creşterea valorilor acidului lactic în peretele arterial a fost evidenţiată şi după administrarea de adrenalină (SUDHOF 1950), iar diminuarea lor după simpatectomie lombară (MARINESCU şi col. 1968) şi inhibarea secreţiei suprarenalei (POSTNOV 1967). Modul cum utilizează sau elimină peretele arterial acest produs de degradare nu este încă bine cunoscut. Difuzarea lactatului în spaţiile extracelulare se face mult mai lent decît a bioxidului de carbon, iar lichidele interstiţiale, ca şi plasma, nu au mecanisme de legare şi inactivare. Asupra consecinţelor locale ale acumulării lactatului s-au făcut numeroase speculaţii, scăderea pH-ului putînd influenţa metabolismul celulelor musculare netede, capacitatea lor de sinteză, stabilitatea structurală a substanţei fundamentale şi fibrelor.

Ciclul acizilor tricarboxilici sau ciclul Krebs pare a juca un rol important numai în peretele arterial normal, valoarea sa ca sursă de energie scăzînd cu dezvoltarea leziunilor de ateroscleroză. Acest ciclu se desfăşoară în mitocondriile celulelor musculare netede, incluzînd opt reacţii principale catalizate de sisteme enzimatice specifice. ATP-ul şi mai ales grupările sale fosfat intens reactive acţionează ca puncte de legătură între reacţiile biochimice exergonice şi endergonice, creînd numeroase posibilităţi de implicare a celulei musculare netede în variate metabolisme. Energia furnizată de ciclul Krebs peretelui arterial este de aproximativ două zeci de ori mai eficientă decît cea furnizată de glicoliza anaerobă (ZEMPLENYI 1968). Astfel, conversiunea glicolitică a unei molecule de glucoză în două molecule de acid lactic nu duce decît la un „cîştig" net de două molecule de ATP; dimpotrivă, oxidarea prin ciclul Krebs a unei molecule de glucoză în şase molecule de bioxid de carbon şi apă permite producerea a nu mai puţin de 34 de molecule de ATP.

Şuntul pentozic pare a fi a treia modalitate de obţinere a energiei de către celulele musculare netede din peretele arterial. Metabolizarea glucozei pînă la bioxid de carbon şi apă duce la formarea a 12 molecule de TPNH din TPN^+ pentru fiecare moleculă de glucoză. TPNH-ul poate fi considerat o importantă sursă de energie, ca şi ATP-ul. Energia eliberată de TPNH este produsă sub forma a doi electroni şi derivă din oxidarea glucozo-6-fosfatului în 6-fosfogluconolactonă şi decarboxilarea oxidativă ulterioară a acestui compus în ribuloză-5-fosfat. La fiecare din aceste trepte oxidative, o moleculă de TPN^+ este convertită în TPNH ce poate fi cuplat cu reacţiile ce necesită energie.

Cele trei mecanisme de producere a energiei în peretele arterial sînt schematizate în *fig. 18* şi *19*. Mai există şi a patra cale, de cuplare a reacţiilor redox cu fosforilarea oxidativă, conform teoriei chemiosmotice (MITCHELL 1966). Această teorie susţine că în cursul transportului echivalenţilor reductori

Scanned with OKEN Scanner

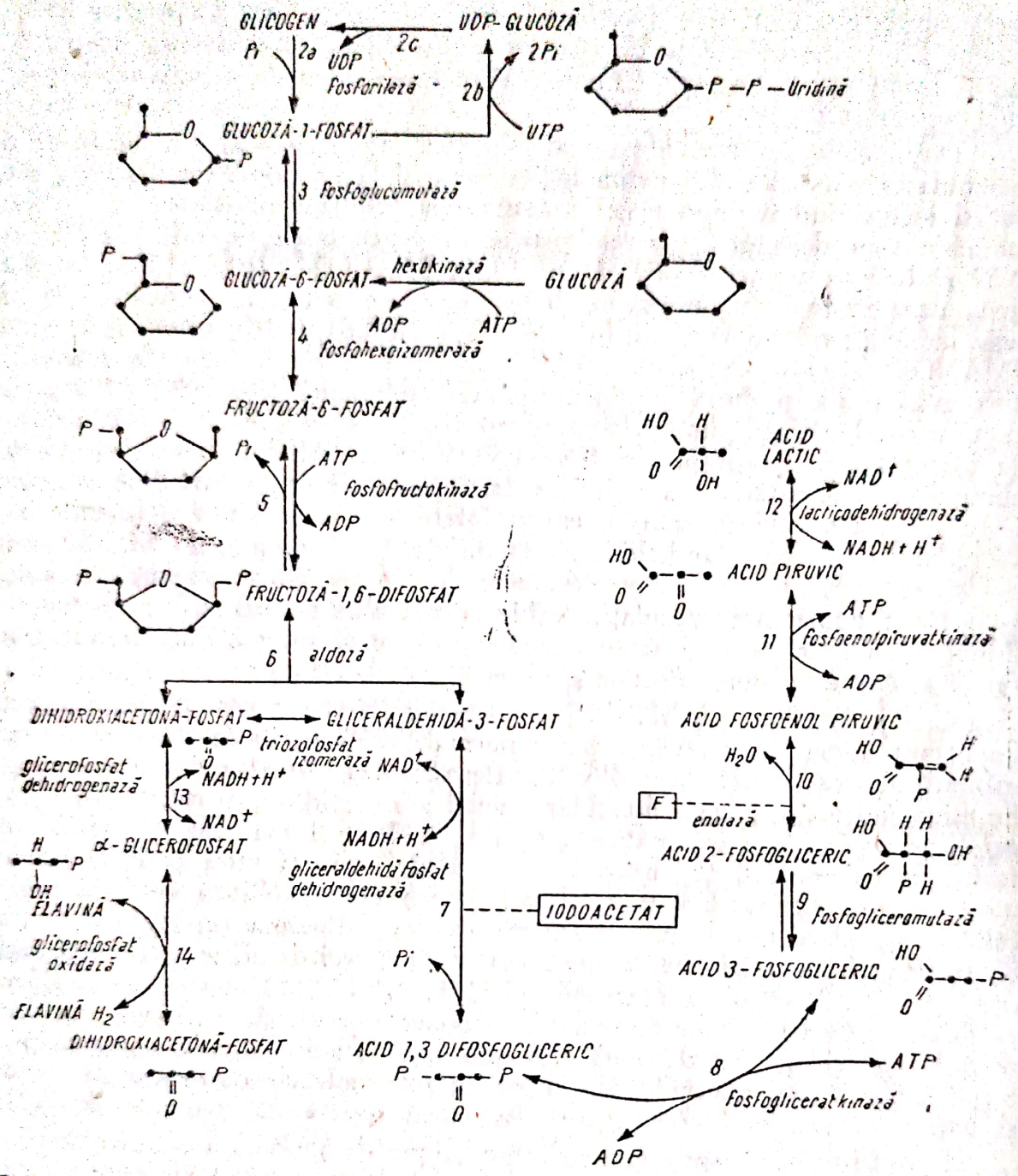


Fig. 18 Schema glicolizei anaerobe și a șuntului pentozic. Punctele negre reprezintă atomi de carbon. Grupele O, H, și OH sînt menționate numai dacă participă la reacțiile schematizate (după JÖBSIS 1964).

prin membrana mitocondrială ar lua naștere gradienți ionici cu un grad ridicat de energie potențială, energie ce poate fi utilizată pentru formarea de ATP.

Din datele prezentate ar rezulta că celulele musculare netede din peretele arterial au o mare plasticitate metabolică, fiind capabile a funcționa în condiții de anaerobioză, dar putînd totuși folosi drept sursă de producere a energiei și calea ciclului Krebs sau/și a șuntului pentozic. *Cînd încep să se dezvolte leziunile de ateroscleroză, predominanța glicolizei anaerobe asupra altor mecanisme de producere a energiei apare ca principala deviere metabolică.*

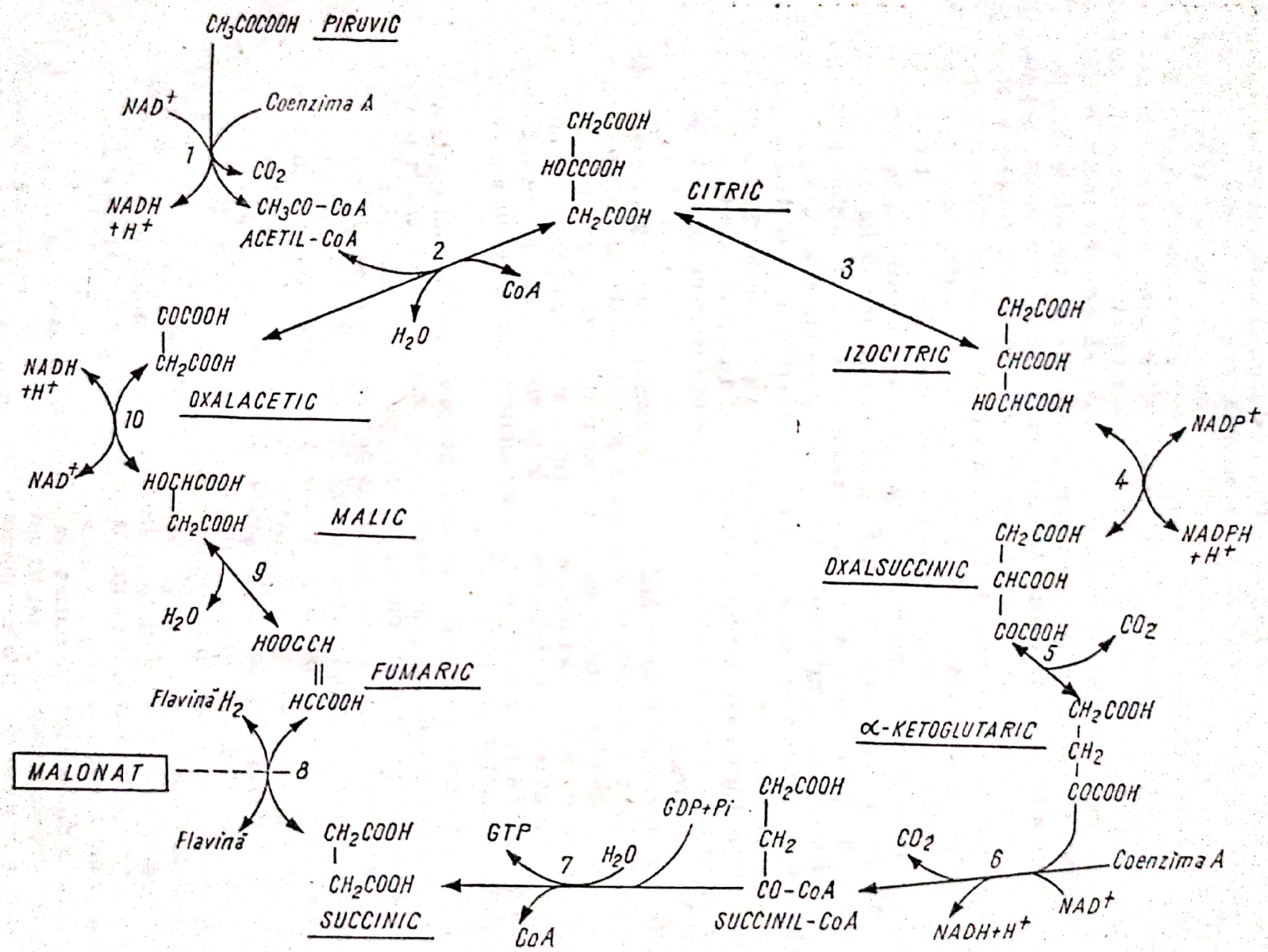


Fig. 19 Ciclul Krebs, ale cărui reacţii complexe se desfăşoară în mitocondriile celulelor musculare netede din peretele arterial (după JÖBSIS 1964).

3. EFECTUL ATEROGEN AL HIPOXIEI

VIRCHOW (1856 a) considera leziunea de ateroscleroză un proces patologic determinat de o stare de asfixie a peretelui arterial. Această ipoteză a rămas ignorată multe decenii, fiind reactualizată prin teoria „anoxemiei" (HUEPER 1944). Conform acestei teorii, toate mecanismele patogenice ale aterosclerozei interferează cu procesele oxidative din peretele arterial, reducîndu-le intensitatea şi favorizînd apariţia necrozei tisulare. Se pune astfel pe primul plan rolul aterogen al hipoxiei, ce agravează evoluţia leziunilor de ateroscleroză, creînd un dezechilibru între necesităţile de energie şi posibilităţile de producere a energiei. Acest dezechilibru devine evident în faza iniţială de formare a plăcilor aterosclerotice, cînd apare o proliferare masivă a celulelor musculare netede şi o sinteză abundentă a macromoleculelor de mucopolizaharide acide şi de colagen. În plus, este potenţată şi sinteza de fosfolipide, trigliceride, colesterol şi acizi graşi, toate implicînd un consum crescut de energie pe care glicoliza anaerobă nu este capabilă să-l satisfacă. Suprasolicitarea, de lungă durată a celulelor, fără un răspuns metabolic adecvat, ar constitui principala cauză a necrozei respectivelor celule, acumulările de detritus necrotic favorizînd apariţia ulterioară a ateroamelor. Cu înaintarea în vîrstă s-a evidenţiat o scădere a capacităţii peretelui arterial de a-şi intensifica activitatea metabolică şi producerea de energie la solicitarea unor stimuli exogeni sau endogeni, explicîndu-se astfel, cel puţin în parte, creşterea susceptibilităţii la ateroscleroză începînd din al patrulea deceniu al vieţii (PANTESCO şi col. 1962).

În ateroscleroza experimentală apare de asemenea un consum mărit de energie şi implicit o catabolizare crescută a glucozei odată cu apariţia leziunilor, valorile acidului lactic în peretele arterial dublîndu-se sau triplîndu-se. Pe plan enzimatic se produce o inversare a predominanţelor între subunităţile lacticodehidrogenazei; această inversare reflectă tendinţa de blocare a ciclului oxidativ, compensată pe plan energetic prin intensificarea glicolizei anaerobe (ZAMFIRESCU-GHEORGHIU 1970).

Dintre procesele de sinteză ce au loc în peretele arterial odată cu formarea leziunilor aterosclerotice, producerea de acizi graşi consumă cea mai mare cantitate de energie. O parte din aceşti acizi graşi neoformaţi sînt folosiţi şi ca sursă de energie, aceasta constituind o particularitate metabolică a arterelor cu leziuni incipiente de ateroscleroză (St. CLAIR 1976). Dacă nevoile de oxigen ale celulelor nu pot fi satisfăcute în întregime hipoxia se intensifică iar sinteza *de novo* a acizilor graşi este treptat înlocuită cu alungirea lanţurilor acizilor graşi preexistenţi (HOWARD 1972). Acest ultim mecanism duce la conversiunea acidului palmitic în stearic şi oleic, acidul oleic fiind în mod preferenţial folosit la esterificarea colesterolului pătruns în celule. Are loc mai întîi hidroliza colesterolului esterificat cu acid linoleic, vehiculat de lipoproteine, apoi colesterolul liber prin deesterificare sau iniţial liber în macromolecula de lipoproteină este esterificat cu acid oleic în celula musculară netedă a peretelui arterial.

Relaţia dintre hipoxie, sinteza de acizi graşi şi ateroscleroză pare a fi mult influenţată de variaţiile raportului NADH/NAD^+. În condiţii normale cea mai mare parte din NAD-ul mitocondrial este oxidat (NAD^+) şi sinteza de acizi graşi are o rată coborîtă. Toţi factorii care produc hipoxie în peretele arterial sau accentuează starea preexistentă de hipoxie (scăderea cantităţii de

Scanned with OKEN Scanner

oxigen din plasmă, eliberarea doar parţială în ţesuturi a oxigenului legat, blocarea trecerii oxigenului prin bariera endotelială, blocarea pătrunderii oxigenului în celulele musculare netede, incapacitatea acestor celule de a utiliza oxigenul etc.), acţionează în sens aterogen, producînd o creştere a raportului NADH/NAD$^+$ şi implicit a sintezei de acizi graşi. Inhibarea oxidării NADH-ului de către ciclul Krebs, stimularea consecutivă a sintezei acizilor graşi şi creşterea consecutivă a ratei de esterificare intracelulară a colesterolului liber, apar ca principale „defecte" metabolice cu caracter aterogen (FILIPOVIC şi BUDDECKE 1971; WHEREAT 1971).

Analiza tipurilor de acizi graşi sintetizaţi sub acţiunea hipoxiei a mai evidenţiat şi o potenţare a sintezei acidului eicosatrienoic, asociată cu diminuarea producerii de acizi graşi înalt nesaturaţi. Aceasta ar sugera existenţa, în peretele arterial hipoxic, a unei blocade în treapta de desaturare a acidului linoleic în acizi graşi de tipul 20: 4, blocadă detectată frecvent în perioada dezvoltării leziunilor de ateroscleroză experimentală (FILIPOVIC şi RUTENMÜLLER 1976). Sinteza scăzută de acizi graşi înalt nesaturaţi are numeroase implicaţii: funcţionare defectuoasă a enzimelor legate de membrana mitocondriilor, necuplarea fosforilării oxidative cu transportul de electroni, diminuarea conţinutului în citocrom, modificări de permeabilitate ale membranelor organitelor celulare etc. Hipoxia diminuă şi capacitatea celulelor musculare netede de a sintetiza proteine şi fosfolipide. În condiţiile creşterii aportului de colesterol, scăderea concentraţiei fosfolipidelor poate favoriza trecerea de la starea micelară la cea globulară a lipidelor intracelulare, reflectată de apariţia de vacuole şi de transformarea celulei musculare într-un element cu protoplasmă spumoasă. Se mai sugerează că formarea celulelor cu protoplasmă spumoasă ar mai fi favorizată şi de reţinerea unei cantităţi mai mari de lipide din lipoproteine în respectivele celule, ca o compensaţie la sinteza deficitară de acizi graşi polinesaturaţi. Această reţinere apare foarte evidentă în medii de cultură de celule musculare netede în care există un grad ridicat de hipoxie şi la care s-au adăugat variate clase de lipoproteine (FILIPOVIC şi BUDDECKE 1978).

În afara sintezei de acizi graşi, hipoxia mai intensifică şi sinteza de fosfolipide, trigliceride şi colesterol în celula musculară netedă, elaborarea tuturor acestor substanţe mărindu-se odată cu apariţia leziunilor de ateroscleroză spontană sau experimentală. Dintre fosfolipide creşte în special lecitina, necesară formării reticulului endoplasmic în celulele musculare netede ce alcătuiesc plăcile aterosclerotice. Această creştere este dependentă de aportul de lizolecitină, vehiculată în peretele arterial de lipoproteine. Sinteza de trigliceride depăşeşte de două ori normalul în condiţiile unei hipoxii experimentale, elaborarea acestor lipide necesitînd un aport adecvat de acetat, acizi graşi şi glucoză. Relaţia dintre hipoxie şi hipercolesterolemie a fost semnalată cu două decenii în urmă (KIPISHIDZE 1959); ulterior s-a menţionat succesiunea hipoxie→hipercolesterolemie→necroze ale peretelui arterial (GARBARSCH şi col. 1969). Hipoxia ar intensifica nu numai sinteza colesterolului, ci şi a unor precursori de tipul scualenului. Cînd hipoxia este severă, formarea scualenului poate deveni predominantă, blocîndu-se conversiunea lui în colesterol (DALY 1971). Pe de altă parte hipercolesterolemia măreşte nevoile energetice ale peretelui arterial, intensificînd efectele nocive ale hipoxiei preexistente. La porci, captarea de oxigen în peretele aortic a fost de 0,66 μmoli/mg ADN/oră la lotul martor şi de 1,05 la animalele ţinute la dietă bogată în colesterol (SCOTT

Scanned with OKEN Scanner

și col. 1969). Numeroase alte investigații experimentale au ajuns la concluzii similare, hipercolesterolemia producînd în mod constant o creștere a nevoilor energetice ale peretelui arterial, mai ales a consumului de ATP. Datorită hipoxiei persistente, celulele musculare intens solicitate nu pot găsi alte căi de procurare a energiei în afara glicolizei anaerobe. Suprasolicitate, ele ajung rapid la necroză, constatîndu-se o relație lineară între gradul hipercolesterolemiei și numărul celulelor musculare necrozate. La examenul electronomicroscopic, primele organite afectate apar mitocondriile unde există cele mai mari solicitări energetice. Cînd capacitatea funcțională a acestor mitocondrii este depășită, se produc alterări ale crestelor și ruperea legăturilor cu enzimele atașate pe membrane. Ulterior se constată deformări de contur, deslipirea crestelor, apariția unui material omogen intramitocondrial și apoi transformarea acestor organite în vezicule cu conținut lipidic. Procesul a fost asemănat cu degenerescența grasă a ficatului indusă prin tetraclorură de carbon (MORRISON și col. 1971). Cauza principală a alterării mitocondriilor din celulele musculare ale peretelui arterial pare a fi stimularea excesivă a sintezei acizilor grași în prezența unui exces de colesterol pătruns în citoplasma celulei. În acest sens pledează modificările obținute în culturi de celule musculare netede după adăugarea de β-lipoproteine la mediul de cultură și crearea unei stări de hipoxie prelungită (BIERMAN și ALBERS 1976).

Hipoxia este implicată și în acțiunile cu caracter aterogen ale fumului de tutun, ce introduce în circulație mari cantități de monoxid de carbon. Cu aproximativ un deceniu în urmă s-a susținut că acest gaz potențează, la iepuri, efectul aterogen al dietelor bogate în colesterol (ASTRUP și col. 1967), dar recent aceste rezultate au fost infirmate de același grup de autori (HUGOD și col. 1978). În alte investigații nu s-au semnalat la iepure modificări structurale sub acțiunea monoxidului de carbon, nici creșteri ale lipidelor acumulate în peretele arterial (THOMSEN 1974; DAVIES și col. 1976). La maimuțe au apărut celule spumoase deși animalelor nu li s-au administrat diete bogate în lipide (THOMSEN 1974). Pe un lot de șoareci supus acțiunii gazelor de eșapament (monoxid de carbon 350—400 ppm), 6 ore pe zi timp de 13 săptămîni s-au observat îngroșări focale ale intimei aortei și alterări ale lamelor elastice, acumulările lipidice lipsind la toate animalele investigate. După o săptămînă de experiment au crescut semnificativ valorile colesterolemiei, precum și ale lipidelor totale, în timp ce izoenzimele lactico-dehidrogenazei prezentau o revenire spre *patern*-ul de tip fetal (CUCU și col. 1975). La porumbeii din rasa susceptibilă la ateroscleroză (White Carneau), monoxidul de carbon nu a produs o agravare a evoluției leziunilor spontane de ateroscleroză, ci doar a celor obținute experimental cu diete conținînd 1% colesterol (ARMITAGE și col. 1976). În sfîrșit, arterele de om perfuzate în condiții de sterilitate, *in vitro*, cu sînge conținînd concentrații variabile de monoxid de carbon, au prezentat creșteri ale permeabilității endoteliale (SARMA și col. 1975 a). Această creștere a permeabilității endoteliale este efectul cel mai constant întîlnit sub acțiunea monoxidului de carbon, la toate speciile și în toate condițiile experimentale.

Referindu-ne tot la fumători, mai trebuie menționată prezența în circulație a unor cantități anormal crescute de carboxihemoglobină, ce diminuă capacitatea de oxigenare a tuturor țesuturilor și organelor, implicit a peretelui arterial. Cu cît este mai redus gradul de disociere a hemoglobinei, cu atît celulele musculare netede din artere recurg la glicoliza anaerobă ca principala

Scanned with OKEN Scanner

sursă de energie. Nivelul ridicat al carboxihemoglobinei reduce cantitatea de oxigen eliberată la nivelul celulei musculare netede din peretele arterial, al celulei contractile miocardice, precum şi al elementelor specializate din sistemul de conducere al cordului. Se susţine, pe baza acestor constatări, că incidenţa crescută a cardiopatiei ischemice la fumători s-ar datora nu numai agravării evoluţiei leziunilor de ateroscleroză, ci şi alterărilor metabolice ce apar în celulele miocardice, celule ce devin extrem de sensibile la ischemie (AYRES şi col. 1970).

B. ENDOTELIUL

Cu un secol în urmă VIRCHOW (1856 a.b.) a anticipat participarea celulelor endoteliale în procesul de aterogeneză. Pe măsura perfecţionării metodelor de investigaţie, punctul de vedere susţinut de Virchow a fost confirmat în numeroase lucrări, stînd şi la baza unei teorii recente în care contracţia celulelor endoteliale este considerată mecanismul „cheie" al aterosclerozei (SHIMAMOTO şi SUNAGA 1972; SHIMAMOTO 1974). Conform acestei teorii, agenţii şi substanţele apte a produce contracţia celulelor endoteliale acţionează în sens aterogen, iar cei care induc relaxarea acestor celule acţionează în sens antiaterogen (SHIMAMOTO 1975).

Cercetările care au demonstrat rolul jucat de anumite tipuri de stresuri hemodinamice în etiopatogenia aterosclerozei au sugerat în acelaşi timp că endoteliul ar fi placa turnantă prin intermediul căruia sînt iniţiate modificările induse de aceste stresuri. În special *eroziunile endoteliului* capătă o importanţă din ce în ce mai mare în mecanismul de aterogeneză, existenţa lor permiţînd o reevaluare a tuturor teoriilor privind etiopatogenia bolii (ROSS şi GLOMSET 1976; LINDNER 1978).

1. PARTICULARITĂŢILE STRUCTURALE ŞI ULTRASTRUCTURALE

La microscopul fotonic, celulele endoteliale apar ca un strat de elemente poligonale, aplatisate, cu o grosime de 0,5—1,2 μ, proeminînd în lumen în funcţie de starea de contracţie a fiecărui element, precum şi în funcţie de tonusul general al peretelui arterial. Relieful suprafeţei endoteliale pare mai neregulat la arterele de tip muscular (coronare, cerebrale, renale), decît la cele de tip elastic (aortă, iliace, carotidă).

Forma şi diametrele celulelor endoteliale se modifică cu înaintarea în vîrstă, la bătrîni apărînd elemente cu citoplasmă mai bogată, acoperind o suprafaţă mai mare a barierei endoteliale şi avînd frecvent mai mulţi nuclei. Apar şi modificări induse de condiţiile hemodinamice locale asupra cărora am insistat în capitolul anterior şi nu mai revenim asupra lor. Forma şi diametrele celulelor endoteliale se modifică şi în funcţie de geometria vasului, fiind în general orientate în direcţia longitudinală în segmentele rectilinii ale arterelor şi aparent lipsite de o orientare predominantă în zonele de curburi, emergenţe şi bifurcaţii. În fig. 5 s-a prezentat un exemplu demonstrativ al diferenţelor care există între endoteliul aceleiaşi artere în zone de scurgere rectilinie a coloanei de sînge şi în zone unde apar curenţi multidirecţionali, turbulenţe, unde retrograde şi alte tipuri de stresuri hemodinamice adiţionale. Aces-

Scanned with OKEN Scanner

tea produc, mai ales în punctele de emergenţă, balonizări, distorsionări, descuamări şi eroziuni superficiale, ultimele cu aspectul unor mici cratere în care ţesutul conjunctiv subendotelial vine în contact direct cu coloana de sînge în mişcare. Endoteliul zonelor de bifurcaţii şi emergenţe se mai deosebeşte de cel din segmentele rectilinii ale vasului şi printr-o permeabilitate crescută, ce atinge valorile maxime în regiunile de descuamare şi erodare. Face excepţie zona pintenului de bifurcaţie în care loveşte direct curentul sanguin axial şi care conţine un endoteliu extrem de rezistent la stresurile hemodinamice şi cu o permeabilitate foarte redusă. Teritoriile în care se constată o permeabilitate mărită şi care sînt supuse erodărilor induse de stresuri hemodinamice, se suprapun topografic zonelor cunoscute pentru susceptibilitatea lor particulară la apariţia plăcilor aterosclerotice. În patul coronarian stîng aceste teritorii includ bifurcaţia trunchiului comun, emergenţele arterelor descendentă anterioară, circumflexă, prima diagonală, prima septală, precum şi segmentul proximal (primii 20 mm) ai descendentei anterioare şi circumflexei. În patul coronarian drept apar cu erodări endoteliale şi sînt în acelaşi timp susceptibile la dezvoltarea plăcilor aterosclerotice, segmentul proximal al coronarei drepte (primii 50 mm), zona de emergenţă a descendentei posterioare şi mai rar zona de emergenţă a marginalei drepte.

La *microscopul electronic* celulele endoteliale prezintă un glicocalix, microvili cu aspect de expansiuni ale citoplasmei, o membrană bine delimitată, bastonaşe şi microfilamente, pigmenţi şi corpi denşi, vezicule de pinocitoză şi vacuole lizozomale, corpi multiveziculari etc. Impresionează dezvoltarea redusă a reticulului endoplasmic şi aparatului Golgi şi numărul redus de mitocondrii. Aceste organite celulare ocupă spaţii mai mari doar la celulele endoteliale de la embrion sau pe cale de regenerare.

Glicocalixul este principalul component al celulei endoteliale ce vine în contact direct cu coloana de sînge în mişcare şi care suportă efectele mecanice ale stresurilor hemodinamice. Apare ca un strat fin extracelular, dispus pe suprafaţa luminală a celulei, avînd o grosime medie de aproximativ 1 000Å. I se atribuie un anumit rol în reglarea permeabilităţii, datorită vîscozităţii mucopolizaharidelor acide şi glicoproteinelor ce intră în compoziţia sa. Prezenţa acestor macromolecule îi conferă şi proprietăţile unei suprafeţe polarizate, apte să lege ionii cu sarcini electrice pozitive şi să îi respingă pe cei cu sarcini electrice negative. La microscopul electronic poate fi visualizat după colorarea electivă a mucopolizaharidelor acide cu roşu ruteniu (*fig. 20*). Materialul conţinut în acest strat a mai fost detectat în joncţiunile dintre celulele endoteliale, precum şi în vezicule de pinocitoză din protoplasma celulelor endoteliale (STEIN şi STEIN 1973). Grosimea glicocalixului este mai mare în segmentele rectilinii ale arterelor decît în zonele de bifurcaţii şi emergenţe, reducerea grosimei putînd fi asociată cu creşterea permeabilităţii endoteliale. La animalele cu hipercolesterolemie experimentală s-au semnalat atît reduceri (BALINT şi col. 1974) cît şi creşteri (WEBER şi col. 1974) ale grosimei glicocalixului aortei. S-au descris şi mici agregări trombocitare pe glicocalix în prezenţa unui endoteliu aparent nealterat. Hidrofilia, sarcinile electrice, tensiunea „critică" de suprafaţă şi alţi factori au fost pe rînd implicaţi în încercările de a explica formarea acestor agregări. S-a mai incriminat absorbţia de proteine plasmatice de tipul fibrinogenului şi globulinelor pe suprafaţa glicocalixului, favorizîndu-se astfel apariţia unor tipuri particulare de adeziune. În sfîrşit s-a sugerat că enzime de tipul glicozil transferazelor, prezente

Scanned with OKEN Scanner

Fig. 20 Secţiune de endoteliu dintr-o arteră de om, colorată, în timpul fixării, cu roşu ruteniu. Pe suprafaţa dinspre lumen se delimitează un strat electrono-opac, conţinînd un material similar celui din anumite vezicule de pinocitoză şi din joncţiuni intercelulare. ×128000 (după STEIN şi STEIN 1973, cu permisiunea editurii Associated Scientific Publishers, Elsevier, Amsterdam).

în trombocite, ar cataliza formarea unor punţi glucidice între glicoproteinele din aceste celule şi cele din glicocalix (KIM şi LEE 1975).

Microvilii se mişcă în glicocalix şi lama de sînge ce se freacă de suprafaţa endotelială; ei apar ca nişte prelungiri citoplasmatice perpendiculare pe axul longitudinal al celulei. Li se atribuie funcţii receptoare legate de presiunea, compoziţia chimică şi viteza de scurgere a coloanei de sînge; acest rol a fost schematizat în fig. 6. Microvililor li se mai atribuie capacitatea de a: a) diminua viteza de scurgere a lamei de sînge cu care vin în contact; b) facilita schimbul de metaboliţi între peretele arterial şi sîngele circulant; c) proteja endoteliul de contactul cu particule iritante sau toxice; d) capta în mod electiv anumite particule din plasmă şi a uşura trecerea lor ulterioară prin bariera endotelială.

Celulele endoteliale ale capilarelor sintetizează o membrană bazală care reprezintă principalul mecanism de rezistenţă. În arterele mari şi mijlocii această membrană bazală dispare, fiind înlocuită cu simple aglomerări pericelulare de microfibrile şi de substanţă fundamentală. În anumite zone aceste aglomerări pot lua aspectul de „lamină bazală", cu grosimi de 500—600 Å, apărînd adiacente unei membrane celulare groasă de numai 300 Å. Microfibrilele par uneori alcătuite din şiruri de mici structuri veziculare, cu diametre între 20 şi 80 Å (HAUST 1977). În zonele de joncţiuni intercelulare aceste aglomerări pericelulare de microfibrile lipsesc, iar membrana celulei are contururi mai puţin precise. Multe dintre filamentele laminei bazale ancorează celula endotelială de fibrele de colagen sau elastice din zona subendotelială. Respectivele filamente sînt foarte rezistente la stresuri hemodinamice, precum şi la degradări chimice şi enzimatice, rămînînd aparent nealteralte în zonele în care celulele endoteliale suferă alterări structurale mergînd pînă la procese de necroză. S-a sugerat că aceste filamente ar distribui în mod uniform între

Scanned with OKEN Scanner

endoteliu şi zona subendotelială efectele mecanice ale stresurilor hemodinamice; filamentele ar forma o adevărată „articulaţie" endotelio-subendotelială, dotată cu o mare flexibilitate, mai ales în momentul trecerii undei pulsatile (TS'AO şi GLAGOV 1970). Conexiunile dintre endoteliu şi zona subendotelială ar mai include şi prezenţa unui ciment de natură mucopolizaharidică, ce leagă membrana celulelor endoteliale de membrana altor celule sau a structurilor fibroase din zona subendotelială (GOTTLOB şi HOFF 1977).

În ceea ce priveşte conţinutul intracelular, menţionăm prezenţa unor bastonaşe, (denumite şi corpi cilindrici Weibel-Palade) cu diametrul de aproximativ 0,1 μ şi 3 μ lungime, înconjurate de o membrană de 60—80 Å grosime. Aceste bastonaşe ar include filamente dispuse paralel şi o matrice; unele dintre filamente prezintă şi aspecte de microtuburi. Funcţia lor este un subiect controversat; s-a sugerat, printre altele, producerea de substanţe cu acţiune coagulantă, substanţe eliberate mai ales după administrarea de adrenalină (FUCHS şi WEIBEL 1966). Alte microfilamente prezente în citoplasma celulei endoteliale par a face parte din aparatul contractil al celulei, asupra căruia vom reveni în paginile următoare. În afară de formaţiuni filamentoase, microtubulare şi cristaline, există constant şi numeroase vezicule, mai ales către suprafaţa luminală a celulei. Diametrele lor variază între 300 şi 500 Å şi ar rezulta din invaginarea membranei celulare (PALADE 1953).

2. MECANISME IMPLICATE ÎN PERMEABILITATEA SELECTIVĂ

Componentele plasmatice pot pătrunde în peretele arterial: 1) direct prin protoplasma celulelor endoteliale; 2) transportate prin vezicule de pinocitoză; 3) străbătînd joncţiunile intercelulare; 4) prin mecanisme asociate.

Bariera endotelială este rapid străbătută de apă, electroliţi, oxigen, anumite albumine, glucoză şi mult mai lent de fibrinogen şi lipoproteine. De-a lungul aceluiaşi vas pot exista variaţii locale considerabile ale permeabilităţii endoteliale, detectabile prin metode variate, cel mai des utilizat fiind albastrul Evans. Acumularea acestui colorant în spaţiile subendoteliale permite stabilirea unor hărţi cu zone de permeabilitate redusă, medie şi crescută, pentru fiecare teritoriu arterial. Din consultarea acestor hărţi se poate ajunge la concluzia că în toate vasele investigate şi la toate speciile, zonele de bifurcaţie şi de emergenţă sînt mai permeabile pentru albastrul Evans decît traiectele rectilinii ale arterelor. Variaţiile regionale ale permeabilităţii endoteliale au mai fost evidenţiate prin utilizarea marcajului cu substanţe fluorescente şi prin folosirea radioizotopilor. În linii mari au dus la rezultate similare celor obţinute după administrarea de albastru Evans (FRIEDMAN şi BYERS 1963; KLYNSTRA şi BOTTCHER 1970; JORGENSEN şi col. 1972; FRY 1973, 1976; NELSON şi col. 1976; HAUST 1977). Zonele cu permeabilitate crescută prezintă şi o durată de viaţă mai scurtă a celulelor endoteliale (WRICHT 1972; CAPLAN şi SCHWARTZ 1973; CAPLAN şi col. 1974). Permeabilitatea crescută a zonelor de bifurcaţii şi emergenţe permite pătrunderea în spaţiul subendotelial a unor cantităţi mai mari de fibrinogen (BELL şi col. 1974), precum şi de colesterol liber (SOMER şi SCHWARTZ 1972). Mulţi autori au subliniat suprapunerea topografică între zonele ce apar albastre după administrare de coloranţi vitali şi zonele care apar sudanofile după diete bogate în colesterol. Injectarea de hia-

Scanned with OKEN Scanner

luronidază măreşte şi mai mult permeabilitatea regiunilor considerate a fi genetic susceptibile la pătrunderea componentelor plasmatice, sugerînd participarea acidului hialuronic şi condroitin sulfaţilor la reglarea acestei permeabilităţi (KLYNSTRA şi BOTTCHER 1970; KLYNSTRA 1974.

Celulele endoteliale care vin în contact direct prin marginile citoplasmei nu aderă total una la alta, ci lasă între ele spaţii de aproximativ 30—40 Å, cunoscute sub denumirea de *joncţiuni intercelulare*. Aceste joncţiuni ar juca un anumit rol în transferul intercelular de ioni şi metaboliţi şi ar închide ca nişte ventile comunicaţiile dintre lumenul arterei şi zona subendotelială. S-a susţinut că anumite molecule de proteine ar străbate în mod electiv aceste joncţiuni intercelulare (HÜTTNER şi col. 1973), dar unele rezultate nu pledează pentru acest punct de vedere (SIMIONESCU şi col. 1973, 1975). Se pare că în condiţii fiziologice la nivelul endoteliului, atît din artere cît şi din arteriole şi capilare, există joncţiuni ce nu sînt permeabile pentru molecule al căror diametru depăşeşte 20 Å. Modul cum se modifică această permeabilitate cînd joncţiunile sînt „deschise" rămîne un subiect controversat. „Deschiderea" a fost obţinută scăzînd pH-ul lichidelor circulante sub 4,2 sau ridicîndu-l peste 11 (CONSTANTINIDES 1969); lărgiri ale spaţiilor interendoteliale au mai apărut sub acţiunea apei distilate, enzimelor proteolitice de tipul papainei şi elastazei, a anumitor amine (alilamina, clorisondamina, tiramina) şi mai ales a hipoxiei. Stresurile hemodinamice par a fi şi ele capabile să „deschidă" joncţiunile intercelulare ca urmare mai ales a ridicării presiunii intraluminale (HÜTTNER şi col. 1973). Rezultate similare s-au obţinut după administrarea de substanţe ce produc hipertensiuni arteriale de scurtă durată, cum ar fi noradrenalina şi izoproterenolul. Deschiderea joncţiunilor prin creşterea presiunii sistolice ar explica observaţiile mai vechi privind mărirea dimensiunilor „porilor mici" endoteliali la animalele devenite hipertensive.

Datele acumulate în cursul ultimilor ani demonstrează că joncţiunile intercelulare nu par a fi implicate în aterogeneză, atenţia cercetătorilor centrîndu-se asupra transportului prin vezicule a macromoleculelor de lipoproteine şi fibrinogen. Aceste vezicule iau naştere prin invaginarea membranei celulei, rezultînd formaţiuni de dimensiuni variate care traversează protoplasma de la suprafaţa luminală spre cea bazală şi probabil şi în sens invers. S-au descris „curenţi" de transport, atunci cînd predomină trecerea unidirecţională a veziculelor, precum şi formarea unor canalicule transendoteliale rezultînd din suprapuneri de vezicule (SIMIONESCU şi col. 1973, 1975). Capacitatea celulelor endoteliale de a transporta prin vezicule de pinocitoză macromolecule implicate în aterogeneză, cum sînt cele de β-lipoproteine şi fibrinogen, pare a fi stimulată de histamină, endotoxine, complexe antigen-anticorp, supraîncărcări ale sistemului reticulo-histiocitar, hiperlipemii etc. Existenţa unui transport bidirecţional, prin intermediul veziculelor, permite ca anumite substanţe să pătrundă în media arterei venind prin *vasa vasorum*, apoi să ajungă în intimă şi să fie transportate în lumenul arterei străbătînd protoplasma celulelor endoteliale. Prin marcarea diferită cu izotopi a albuminei, globulinei, lipidelor şi colesterolului, s-a putut constata că albumina şi globulina pătrund în lumenul arterei străbătînd peretele vascular din exterior spre interior, gradientul lor de concentraţie scăzînd de la adventice spre intimă (ADAMS şi col. 1968). În investigaţiile în care s-au folosit peroxidaze, fier coloidal, cărbune şi coloranţi vitali, se menţionează că substanţele respective pot fi detec-

Scanned with OKEN Scanner

tate în vezicule de pinocitoză înainte de a se acumula în spaţiul subendotelial; aceste observaţii ar pleda pentru trecerea dinspre lumen spre adventice. Acelaşi sens de circulaţie a fost evidenţiat şi prin folosirea substanţelor fluorescente (SHIMAMOTO şi col. 1972; SHIMAMOTO 1975 a, b, c).

3. MODIFICĂRI INDUSE DE AGRESIUNI

Caracterul aterogen al agresiunilor produse asupra endoteliului de stresurile hemodinamice a fost prezentat în capitolul anterior. Reamintim că *intensificarea tuturor tipurilor de stres hemodinamic*, cu acţiune de durată mai scurtă (descărcări de catecolamine) sau mai lungă (hipertensiune arterială), *se însoţeşte de o creştere a permeabilităţii endoteliale*. Dintre stresurile hemodinamice, cel ce produce distensia arterei în sens circumferenţial, ar determina cea mai marcată creştere difuză a permeabilităţii endoteliale. Pe de altă parte, creşteri localizate ale acestei permeabilităţi sînt frecvent induse de stresul de dragare. Intensificarea stresului de dragare stimulează într-o primă fază transportul prin vezicule de pinocitoză, apoi se produc alterări ale celulelor endoteliale şi descuamarea lor. Experimental, celulele endoteliale încep să se detaşeze din stratul în care sînt incluse cînd stresul de dragare are o intensitate ce depăşeşte 300 dine/cm^2, iar la 400 dine/cm^2 apar constant eroziuni cu aspect crateriform (FRY 1973). Aceste eroziuni induc un răspuns reparator caracterizat prin migrarea masivă a celulelor musculare din medie în intimă, acumularea lor la baza suprafeţei erodate şi formarea unui pseudo-endoteliu. Ulterior, în grosimea intimei erodate, apare un proces de proliferare cu aspect nodular din care rezultă frecvent o placă fibroasă. Formarea de eroziuni „spontane" este tot mai des evidenţiată la animalele de laborator ţinute la diete standard şi cu tensiunea arterială în limitele normale. Uneori suprafaţa denudată se acoperă cu trombocite şi poate constitui sediul formării unui trombus. Durata de viaţă a celulelor endoteliale în zonele unde apar frecvent erodări (bifurcaţii, emergenţe) este mai scurtă decît în regiunile învecinate, procesele de regenerare fiind şi ele mai intense. Cu cît această durată de viaţă se reduce iar înlocuirea elementelor descuamate se face mai lent, creşte tendinţa de formare a eroziunilor ca şi suprafaţa acestor ulceraţii superficiale. S-a sugerat că în afara stresurilor hemodinamice şi trombocitele ar mai contribui la formarea eroziunilor endoteliale. Agregate pe suprafaţa unei zone endoteliale aparent nealterate, trombocitele ar elibera enzime lizozomale cu importante capacităţi destructive, rezultînd eroziunea endoteliului (SVENSEN şi JORGENSEN 1978). Asupra acestui subiect vom mai reveni în cuprinsul monografiei.

Eroziuni endoteliale pot rezulta şi din acţiunea de lungă durată a hiperlipemiilor, mai ales hipercolesterolemii şi hipertrigliceridemii. Studiile cele mai numeroase s-au centrat asupra hipercolesterolemiilor care duc în mod constant la creşterea permeabilităţii endoteliale, veziculele de transport apărînd mai numeroase şi joncţiunile intercelulare mai largi (CONSTANTINIDES şi WIGGERS 1974). Ultrastructural, celula endotelială reacţionează la hipercolesterolemie prin hipertrofia aparatului Golgi, creşterea numărului canaliculelor reticulului endoplasmic, apariţia de incluzii lipidice, în parte cu aspect de vezicule lizozomale. Nu s-au observat însă transformări ale celulelor endoteliale în elemente cu protoplasmă spumoasă. Au fost observate alterări ale

Scanned with OKEN Scanner

celulelor endoteliale şi după injectarea de acizi graşi (arahidonic, linoleic, linolenic, eicosatrienoic etc). Modificările încep cu protruziunea nucleului, apoi apare picnoza, vacuolizarea citoplasmei şi necroză celulară. Zonele cu celule endoteliale necrozate sînt sediul agregărilor masive trombocitare (SEDAR şi col. 1978). S-au semnalat modificări ale celulelor endoteliale şi în cursul trecerii lipoproteinelor prin vezicule de pinocitoză, sugerîndu-se o intervenţie directă a acestor celule în metabolismul lipidic (MARSH şi LEWIS 1975).

4. CONTRACŢIA CELULELOR ENDOTELIALE

Formarea unor pliuri transversale şi neregularităţi ale conturului nuclear, precum şi lărgirea joncţiunilor intercelulare, au fost interpretate ca reflectînd contracţia celulelor endoteliale. S-a sugerat existenţa unor celule endoteliale hiperreactive, normoreactive şi hiporeactive la contracţie. Elementele hiperreactive ar fi nu numai hipercontractile, ci şi hiperpinocitare şi hiperfagocitare. Sînt prezente la animalele susceptibile la ateroscleroza spontantă şi experimentală, iar la om ar fi localizate în zonele unde se dezvoltă cu predilecţie plăcile aterosclerotice. Experimental, contracţia a putut fi indusă prin descărcări de catecolamine, angiotensină, histamină, bradikinină, de stresuri hemodinamice particulare, de hipoxia prelungită etc. Principalul efect aterogen ar rezulta din lărgirea considerabilă a joncţiunilor intercelulare, care ating diametre pînă la 900 Å. În aceste spaţii intercelulare lărgite pot pătrunde toate tipurile de lipoproteine, cu excepţia chilomicronilor.

Contracţia celulelor endoteliale presupune existenţa în protoplasma respectivelor celule a miofilamentelor capabile să realizeze un dispozitiv contractil. Se susţine prezenţa de variate tipuri de proteine contractile, apărînd sub aspectul unor filamente subţiri (40—90 Å), intermediare (70—120 Å) şi groase (130—160 Å), asociate cu corpusculi denşi (SHIMAMOTO 1975 a). În sprijinul acestei prezenţe pledează şi observaţii bazate pe folosirea tehnicilor de imunohistochimie. Astfel, antiserul de iepure faţă de actomiozina extrasă din muşchiul uterin şi faţă de trombostenina extrasă din trombocite, cuplat cu fluoresceină, colorează celulele endoteliale şi celulele musculare netede din artere, precum şi trombocitele (BECKER şi NACHMAN 1973). Antiserul faţă de tropomiozina uterină colorează de asemenea atît celulele endoteliale, cît şi celulele musculare şi trombocitele. În plus, atît actomiozina, cît şi tropomiozina au putut fi evidenţiate în culturi de celule endoteliale umane (JAFFE şi col. 1973). Demonstrarea prin metode imunohistochimice a prezenţei tropomiozinei şi actomiozinei în celulele endoteliale sprijină ipoteza conform căreia bariera endotelială poate fi modificată din punct de vedere al permeabilităţii faţă de macromolecule, influenţînd capacitatea de contracţie şi de relaxare a celulelor endoteliale. Menţionăm însă că nu toate teritoriile vasculare au celule endoteliale dotate cu aparat contractil, acesta lipsind frecvent în arterele, arteriolele şi capilarele cerebrale. Apariţia miofibrilelor şi în endoteliile acestor vase a putut fi indusă prin hipertensiune arterială experimentală (GABBIANI şi col. 1975). S-a descris, ca un aspect ultrastructural particular, prezenţa aparatului contractil şi în artere cerebrale de om la un caz decedat prin hipertensiune arterială cu evoluţie malignă (BECKER şi HARDY 1973).

Scanned with OKEN Scanner

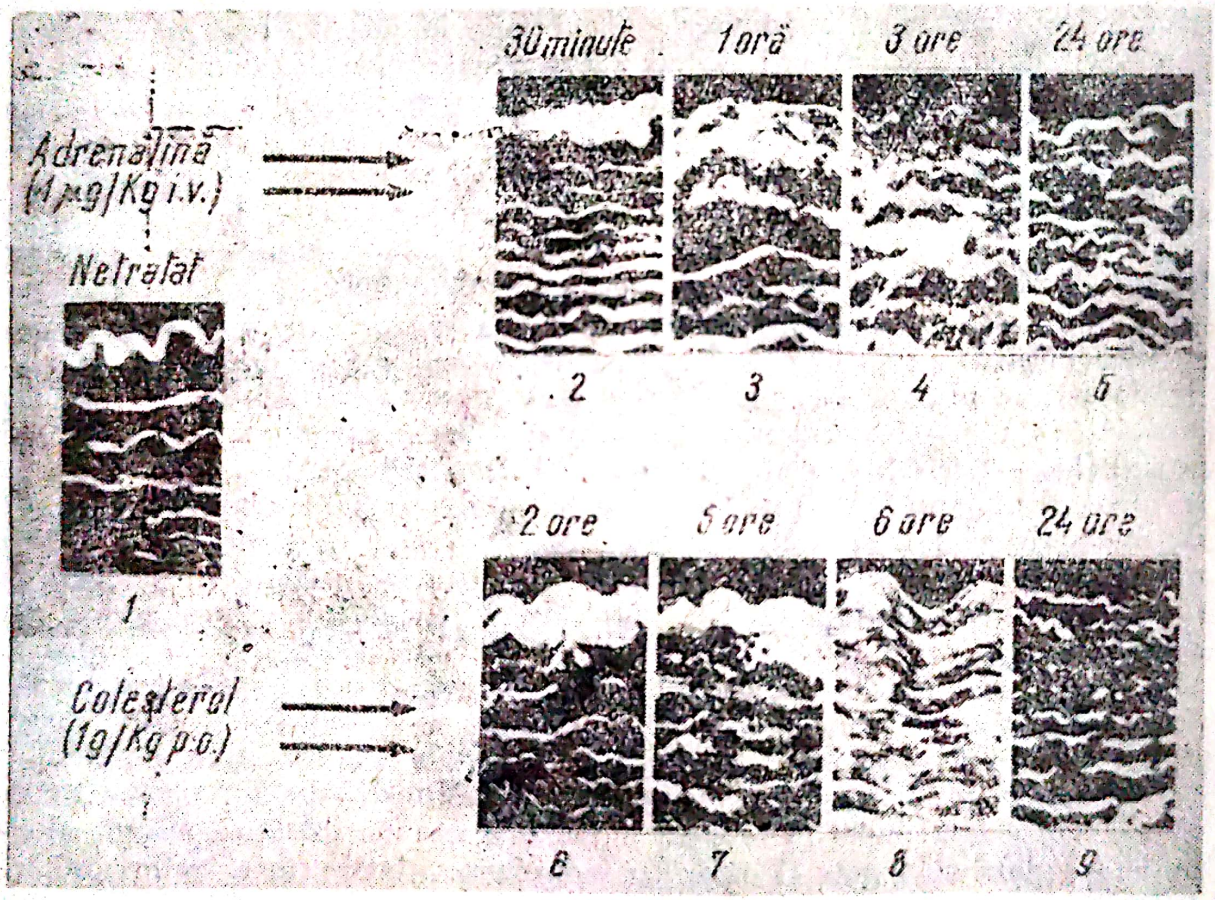


Fig. 21 A. Imagini la microscopul electronic cu transmisie sugerînd contracţia celulelor endoteliale. Ambele figuri reprezintă secţiuni din artera carotidă internă, după pensare şi introducere în lumen de angiotensină (stînga) şi ser fiziologic (dreapta). Angiotensina a produs contracţia celulelor endoteliale, reflectată de cutările transversale apărute pe suprafaţa respectivelor celule, cutări ce ar favoriza formarea de turbulenţe şi agregarea trombocitelor (după SHIMAMOTO 1974, cu permisiunea editurii Springer, Berlin).
B. Diagrama creşterii permeabilităţii prin contracţia celulelor endoteliale, obţinută consecutiv administrării de adrenalină (imaginile 2 – 5) sau după diete bogate în colesterol (imaginile 6 – 9). Vizualizarea acestei creşteri de permeabilitate s-a obţinut prin cuplarea γ-globulinelor, fibrinogenului şi β-lipoproteinelor cu substanţe fluorescente. Prin bunăvoinţa prof. T. SHIMAMOTO.

Scanned with OKEN Scanner

Procesele de excitaţie-contracţie ale celulelor endoteliale ar putea avea ca punct de plecare depolarizări ale suprafeţei membranei celulare, urmate de eliberarea ionilor de calciu din reticulul endoplasmic, activarea ATP-azei din miofibrile şi ca stadiu final scurtarea respectivelor miofibrile cu consum important de ATP. Ciclul contracţiei pare astfel reglat de variaţiile cantitative ale calciului liber. Calciul ar acţiona prin intermediul AMP-ului ciclic, hiperreactivitatea şi hipercontractilitatea avînd la bază scăderea, sub limitele fiziologice, a nivelului AMP-ului ciclic. Această scădere este frecvent asociată cu intensificarea activităţii fosfodiesterazei. S-a sugerat că toate substanţele ce produc o scădere a AMP-ului ciclic ar favoriza contracţia celulelor endoteliale şi prin aceasta pătrunderea în intima arterelor a unor macromolecule aterogene de tipul fibrinogenului şi β-lipoproteinelor. În acelaşi sens ar acţiona şi substanţele care intensifică activitatea fosfodiesterazei. Invers, inhibitorii fosfodiesterazei (EG 467 şi EG 626, derivaţi ftalazonici) au întîrziat apariţia leziunilor de ateroscleroză experimentală (SHIMAMOTO 1975 a). Ipoteza rolului aterogen al contracţiei celulelor endoteliale pare a deschide şi un drum nou în terapeutica aterosclerozei prin folosirea unor substanţe apte să relaxeze celulele endoteliale contractate. Dintre aceste substanţe piridinolcarbamatul şi-a găsit cea mai largă utilizare.

Fig. 21 ilustrează aspectul morfologic al contracţiei celulelor endoteliale (A) şi consecinţele acestei contracţii asupra permeabilităţii endoteliului (B).

5. DIMINUAREA ACTIVITĂŢII FIBRINOLITICE

Conceptul reversibilităţii potenţiale a acumulărilor de fibrină, emis cu peste 70 de ani în urmă (NOLF 1908), sugera existenţa unor celule capabile a dezvolta acţiuni fibrinolitice.

Dintre aceste celule, un rol important a fost atribuit elementelor endoteliale, întrucît ele conţin cantităţi mari de activator al plasminogenului (KWAAN 1966). Cu ajutorul unei metode denumită „tehnica autografiei fibrinolizei" (TODD 1959) se poate demonstra capacitatea celulelor endoteliale de a degrada reţelele de fibrină. Secţiuni la congelaţie din peretele arterial sînt acoperite cu un strat fin de fibrină ce conţine plasminogen, ţinute 3—60 minute la 37°C şi apoi colorate cu hematoxilină Harris. Zonele unde există activitate fibrinolitică apar clare, consecutiv digestiei fibrinei (*fig. 22*).

Numeroase cercetări au arătat că numai endoteliul este sursă importantă de activator al plasminogenului în peretele arterial. Producţia cea mai mare are loc în endoteliul capilarelor din *vasa vasorum* şi în consecinţă rezultatele cele mai clare de degradare a fibrinei apar la nivelul adventicei. Sînt însă suficient de demonstrative şi rezultatele obţinute la nivelul endoteliului arterei, în timp ce intima şi zona avasculară a mediei nu au capacitate fibrinolitică. Sinteza activatorului plasminogenului în celulele endoteliale ale arterelor scade cu înaintarea în vîrstă, iar la vîrste similare este mai puternică la femeie decît la bărbat (ONOYAMA şi TANAKA 1969). Observaţii pe diferite teritorii vasculare au evidenţiat o activitate fibrinolitică mai intensă a endoteliului arterelor coronare şi renale în comparaţie cu cel din artera bazilară şi artera carotidă, iar în artera carotidă ramura internă are o activitate mai intensă

Scanned with OKEN Scanner

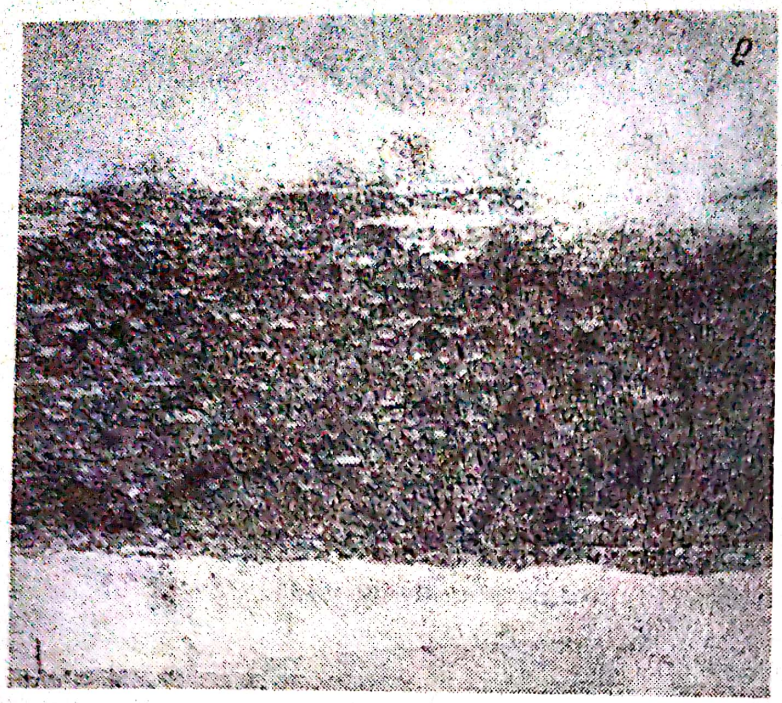


Fig. 22 Localizarea activității fibrinolitice tisulare prin metoda Todd (text p. 105). a) Aorta toracică, aparent normală la examenul microscopic, prezintă zone de fibrinoliză la nivelul adventicei și al regiunii endoteliale, x 33.

decît cea externă (LIEBERMAN și KELLOGG 1961). Întrucît aceste diferențe se transmit genetic, observațiile menționate au evidențiat un nou aspect al modului complex în care factorii genetici pot interveni în etiopatogenia aterosclerozei umane. Substanțele ce labilizează membrana lizozomilor reduc capacitatea fibrinolitică a endoteliului, iar cele care stabilizează membrana, intensifică această capacitate. Pe baza unor date experimentale, printre agenții potențiali ai labilizării pe primul plan s-ar situa acizii grași liberi; dintre agenții stabilizatori, de o importanță deosebită pare a fi hidrocortizonul.

b) Placă aterosclerotică din aorta toracică; zonă difuză de fibrinoliză la suprafața plăcii, indusă de prezența celulelor endoteliale ale capilarelor de neoformație ce au invadat placa, ×60 (după ONOYAMA și TANAKA 1969, cu permisiunea editurii Schattauer, Stuttgart).

Scanned with OKEN Scanner

6. EFECTELE AGREGĂRII TROMBOCITELOR

În condiţii fiziologice, sîngele circulă în contact cu o suprafaţă endotelială netedă, netrombogenă. În segmentele vasculare cu scurgere rectilinie, elementele figurate sînt împinse spre curentul axial şi au contact redus cu endoteliul. La nivelul bifurcaţiilor şi emergenţelor, unde apar schimbări bruşte ale geometriei arterei, turbulenţele şi undele retrograde deplasează, spre periferia coloanei de sînge, un mare număr de trombocite. Dacă celulele endoteliale sînt contractate, cutările care apar pe suprafaţa lor datorită bombării nucleului şi formării de pliuri transversale citoplasmatice, creează mici turbulenţe locale care induc agregarea trombocitelor. Această agregare este potenţată şi de stresuri de dragare intensificate, depăşind ca efect mecanic 150 dine/cm² (GLOVER şi col. 1974). Sub influenţa acestui stres de dragare intensificat apar mai rapid polimerizarea reţelelor de fibrină, conversiunea protrombinei în trombină şi alte modificări ce favorizează formarea trombusului. Agregarea trombocitelor pe suprafaţa endotelială sau în apropierea ei mai este favorizată de eliminarea de ADP din eritrocite sau din alte celule traumatizate de stresul de dragare intensificat sau prin prezenţa turbulenţelor. Acestea din urmă antrenează trombocitele în vîrtejuri, determinînd rotirea lor în jurul propriului ax, deformarea şi intercoliziunea, rezultînd eliberarea de substanţe ce favorizează şi autoîntreţin agregarea. În sfîrşit agregarea trombocitelor pe endotelii ar mai fi favorizată de inhibarea unor factori prezenţi în intimele îngroşate şi care în mod fiziologic se opun agregării trombocitelor (HEYNS şi col. 1974).

Trombocitele agregate şi degranulate elimină pe suprafaţa endotelială adrenalină, serotonină, histamină, enzime hidrolitice lizozomale, (β-galactozidază, β-glucuronidază, N-acetil glucozaminidază, α-manozidază, catepsine, aril sulfataze, fosfolipaze, elastază, colagenază etc.). Sub acţiunea acestor substanţe ar rezulta atît contracţia celulelor endoteliale, cu deschiderea largă a joncţiunilor sau/şi a canaliculelor transendoteliale, cît şi alterări ale membranelor celulare şi diferitelor organite. Alterările pot fi atît de grave încît celula se descuamează, favorizînd contactul direct între trombocite şi microfibrilele din zona subendotelială. Noua suprafaţă la care aderă masa trombocitară este bogată în colagen, inducînd formarea de noi valuri de agregare; concomitent se produce conversiunea fibrinogen-fibrină şi polimerizarea reţelelor de fibrină cu un grad ridicat de stabilizare structurală. Rezultă apariţia unui trombus pe care coloana sanguină în mişcare şi în special stresul de dragare intensificat nu îl mai pot desface de zona de aderenţă cu peretele arterial. Sub acest trombus se produc acumulări masive de celule musculare migrate din media sau din zona profundă a intimei îngroşate, alcătuind un pseudo-endoteliu. În condiţii experimentale el prezintă o permeabilitate foarte redusă, mai redusă decît a endoteliului normal, apărînd impermeabil pentru macromolecule. Dacă endoteliul regenerează, el se va extinde peste trombusul aderent la peretele arterial, incluzîndu-l în inimă unde suferă o organizare conjunctivă, dînd naştere unei plăci fibroase. Dacă regenerarea este incompletă sau endoteliul regenerat este din nou erodat, ciclul de reacţii reîncepe, ajungînd în final tot la constituirea de plăci ateroscleroticе. Dinamica proceselor menţionate este susţinută de rezultatele a numeroase cercetări experimentale în care, producîndu-se denu-

Scanned with OKEN Scanner

darea endoteliului, s-au succedat toate reacţiile descrise la om. Menţionăm în acest sens un experiment în care s-a introdus un cateter în aorta de iepure şi cu ajutorul unui balon fixat la capătul cateterului s-au provocat eroziuni endoteliale. În zonele unde endoteliul era doar alterat, dar neerodat, s-au format simple plăci fibroase; în zona cu endoteliul erodat au apărut microtrombboze ce au fost progresiv încrustate în intima aortei, rezultînd în final tot

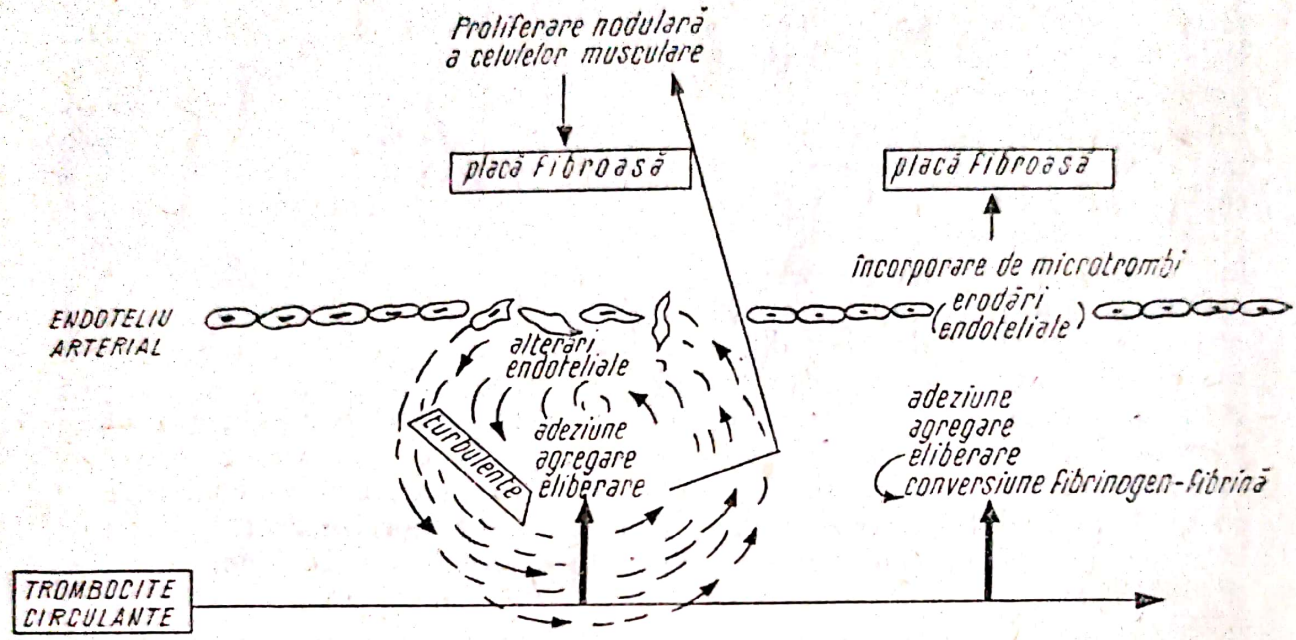


Fig. 23 **Prezentare schematică a interrelaţiilor dintre trombocite şi endoteliu, corelate cu patogenia aterosclerozei**

plăci fibroase; în zonele cu alterări endoteliale nesemnificative, reversibile, s-au dezvoltat striuri lipidice. Subliniem că în tot cursul experimentului iepurii au fost ţinuţi la diete standard, sărace în lipide şi mai ales lipsite de colesterol (MOORE 1973). Un experiment foarte apropiat ca metodologie şi rezultate a fost efectuat pe porci (CLOPATH 1978). În ambele experimente, dieta lipsită de colesterol şi grăsimi saturate exclude implicarea acestor substanţe în histogeneza leziunilor, care apar ca o reacţie adaptativă aberantă a peretelui arterial la agresiuni asupra endoteliului induse prin factori mecanici. Pe de altă parte, aceste experimente pun pe primul plan rolul aterogen al agregărilor şi degranulărilor trombocitare, sugerîndu-se că aceste celule sînt apte nu numai de a leza endoteliul, ci şi de a inhiba regenerarea sa, favorizînd astfel reacţii de adaptare aberante din care rezultă plăcile fibroase (BJORKERUD şi BJONDERS 1973). Concomitent cu inhibarea reendotelializării eroziunilor superficiale, se susţine că trombocitele exercită un efect stimulator asupra proliferării celulelor musculare netede prin intermediul unui factor eliberat sub acţiunea trombinei (ROSS şi col. 1974). Aceasta ar explica gradul ridicat de îngroşare intimală prezent sub zonele cu endoteliul erodat pe care apar agregate trombocitele.

În *fig. 23* prezentăm într-o formă schematizată, interrelaţiile dintre trombocite şi endoteliu cu implicaţii în etiopatogenia aterosclerozei.

Scanned with OKEN Scanner

C. CELULA MUSCULARĂ NETEDĂ

1. DATE INTRODUCTIVE

Primele observaţii privind acumularea subendotelială a unor celule de tip „fibroblastic" după diete bogate în colesterol au fost publicate cu peste o jumătate de veac în urmă. Imaginile histologice sugerau că aceste celule provin din medie, migrînd în intimă prin fenestraţiile sau întreruperile limitantei elastice interne. Migrarea a apărut ca un proces nespecific, fiind indusă nu numai de hipercolesterolemie, ci şi de variate stresuri hemodinamice, agresiuni mecanice, chimice, biologice etc., exercitate asupra endoteliului. Indiferent de natura agentului care a produs agresiunea, în cazul existenţei unei hipercolesterolemii de durată mai lungă, o parte dintre celulele migrate în zona subendotelială se încărcau cu lipide şi deveneau elemente cu protoplasmă spumoasă.

În 1950 ALTSCHUL a susţinut că denumirea de fibroblast atribuită celulelor ţesutului conjunctiv din media şi intima arterelor este inadecvată întrucît aceste elemente sînt de tip contractil, similare celor din pereţii tubului digestiv. În cursul ultimelor două decenii această observaţie a fost pe deplin confirmată, atît prin folosirea microscopiei electronice, cît şi a imunohistochimiei.

La microscopul electronic, celulele din media şi intima arterelor prezintă o membrană bazală ce nu poate fi vizualizată la microscopul fotonic şi care le deosebeşte de fibroblaste. În plus, microscopul electronic a evidenţiat mai clar decît cel fotonic prezenţa miofilamentelor, iar tehnicile de histochimie şi de imunohistochimie organizarea lor macromoleculară. Prezenţa membranei bazale şi a miofilamentelor nu este însă o observaţie constantă, datorită modulaţiilor funcţionale şi anumitor aspecte de „dediferenţiere" care apropie celula musculară netedă de paternul ultrastructural al fibroblastului sau macrofagului. Această plasticitate frecvent întîlnită ar explica de ce s-au atribuit atîtea denumiri celulelor musculare netede din artere şi mai ales din intimele îngroşate: celulă musculară netedă „modificată" sau „atipică", celulă de tip fibroblastic, celulă subendotelială, celulă endotelială modificată, elemente subendoteliale nediferenţiate, celulă stelată, celulă reticulară, celulă reticulo-endotelială, celulă mezenchimală, celulă monocitoidă, celulă mononucleată, macrofag local, macrofag intimal, intimacit etc.

Culturile de ţesuturi au fost larg folosite pentru o mai bună evidenţiere a particularităţilor structurale, ultra structurale şi funcţionale ale celulelor musculare netede, mai ales a acelora din media aortei. Aceste celule cresc sub formă de sinciţii şi conţin în citoplasmă miofilamentele caracteristice, iar la periferia celulei membrana bazală. Dezvoltarea în culturi a celulelor musculare netede din peretele arterial necesită 8—10 zile, în comparaţie cu numai 3—5 zile pentru fibroblaşti şi 2—4 zile pentru celulele din miometru (KASAI şi POLLAK 1964). Cu ajutorul anticorpilor antimiozină de celulă musculară netedă se poate obţine o colorare selectivă a aparatului contractil în timp ce fibroblaştii prezintă doar o puternică fluorescenţă nucleară (HOFFMANN şi GOGER 1976). Anticorpii antimiozină cuplaţi cu fluoresceina pot colora celulele musculare netede din artere şi *in vivo*. Dacă animalul este ţinut la o

dietă bogată în colesterol spre a se produce o îngroşare intimală, fluorescenţa peretelui arterial devine şi mai puternică (KNIEREM şi col. 1968).

La coloraţiile de rutină cu hemalaun — eozină, celulele musculare netede apar ca elemente alungite, slab eozinofile, conţinînd filamente mai intens colorabile decît citoplasma interfibrilară. Aceste filamente sînt orientate în lungul axului longitudinal al celulei şi aglomerate la periferia citoplasmei. Cu coloraţiile tricrom Masson şi Azan filamentele sînt de asemenea bine individualizate în roşu şi apar net conturate dacă se foloseşte hematoxilina fosfotungstică sau fosfovolframică. Prin folosirea tehnicilor de histochimie se pot evidenţia numeroase enzime ce vor fi prezentate în continuare, precum şi granule de glicogen, de glicoproteine, proteine necolagene bogate în grupări disulfidice şi sulfhidrilice, fosfolipide şi ceroid. Mai menţionăm existenţa în celulele musculare netede, a numeroase vezicule de pinocitoză iar în jurul celulei a unui spaţiu de aproximativ 70—150 Å ce separă membrana celulară de membrana bazală. Din punct de vedere al patogeniei aterosclerozei sînt importante de semnalat şi structurile cu aspect de lizozomi, activitatea hidrolazică a celulelor musculare netede reprezentînd aproximativ 40% din cea a hepatocitelor (PETERS şi col. 1972).

Au fost atribuite celulelor musculare netede din pereţii arterelor mari şi mijlocii următoarele proprietăţi, funcţii, manifestări dinamice şi particularităţi metabolice:

— formarea de miofibrile, membrană bazală, reţele reticulinice, fibre elastice, fibre de colagen, substanţă fundamentală şi variate tipuri de microfibrile, toate reflectînd o bogată capacitate de sinteză de macromolecule de colagen, elastină, glicoproteine, mucopolizaharide acide etc.;

— elaborare de glicogen, fosfolipide, trigliceride, acizi graşi, colesterol liber şi esterificat, variate tipuri de enzime şi coenzime;

— manifestări dinamice de tipul migrării din medie în intimă, colonizării subendoteliale, precum şi de tipul modulaţiilor funcţionale, diferenţierii şi dediferenţierii;

— participare activă la „*clearance*-ul" intimei şi mediei, prin pinocitoză şi fagocitoză, precum şi la remodelări tisulare, cicatrizări, rezorbţii;

— prevalenţa glicolizei anaerobe, sinteză concomitentă de dermatan sulfat şi heparan sulfat, capacitate redusă de a degrada esterii de colesterol şi de a forma lame elastice la adult.

Principalii stimuli ai celulelor musculare netede din peretele arterial sînt stresurile hemodinamice.

Datele prezentate în capitolul II au demonstrat că aceste stresuri influenţează în mod considerabil tonusul celulelor musculare netede, precum şi cantitatea şi calitatea proceselor de sinteză ce par adaptate particularităţilor fiecărui tip de stres.

Anumite date experimentale sugerează că şi dispoziţia celulelor musculare netede din peretele vascular este dependentă de stresul hemodinamic dominant. Experimental, grefe de material plastic extensibile doar în direcţie longitudinală, implantate în aorta de cîine, prezintă toate celulele musculare netede orientate cu axul longitudinal în direcţia în care este întinsă proteza vasculară. Dacă se implantează în aorta de cîine grefe din material plastic ce se lasă destinse doar circumferenţial, toate celulele musculare din neointimă se dispun cu axul longitudinal perpendicular pe axul longitudinal al vasului (NOINSHIKI 1978).

Scanned with OKEN Scanner

2. CAPACITATEA DE SINTEZĂ

Economia celulei musculare netede este aproape în exclusivitate orientată spre sinteza de macromolecule de elastină, colagen şi mucopolizaharide acide la sfîrşitul perioadei embrionare şi la începutul perioadei fetale. După ce peretele arterial a atins un anumit grad de organizare, apar primele contracţii cardiace şi odată cu ele şi primele stresuri hemodinamice. Aceste stresuri se exercită în special asupra aortei, arterei pulmonare şi arterelor coronare, acestea din urmă prezentînd importante aspecte de remodelare începînd din a 4-a lună a vieţii intrauterine. Apar perniţe intimale, alterări şi reduplicări ale limitantei elastice interne, zone de îngroşări ale intimei. La sfîrşitul vieţii fetale se reduce considerabil capacitatea de sinteză a celulelor musculare şi se dezvoltă la maximum aparatul lor contractil, asigurîndu-se astfel un tonus adecvat condiţiilor hemodinamice locale. Dacă se produc agresiuni asupra endoteliului, apar noi migrări din medie în intimă în zona afectată şi elementele colonizate subendotelial îşi elimină miofibrilele, redevenind capabile să sintetizeze mari cantităţi de macromolecule ce vor forma substanţă fundamentală şi fibre. Această trecere de la element contractil spre element secretor şi invers, poate avea loc de mai multe ori în cursul vieţii unei celule, demonstrînd păstrarea capacităţii de remodelare funcţională. La microscopul electronic, faza în care predomină procesele secretorii este caracterizată printr-o dezvoltare considerabilă a aparatului Golgi şi reticulului endoplasmic, iar faza în care predomină funcţia contractilă, printr-o dezvoltare considerabilă a miofilamentelor. *Fig. 24* schematizează această modulaţie funcţională, iar *fig. 25* organizarea ierarhică a macromoleculelor sintetizate de celula musculară netedă din peretele arterial. Acest program de sinteză, ce se transmite genetic, se păstrează şi în culturi de ţesuturi. Intensitatea sintezei scade însă cu înaintarea în vîrstă, după cum se modifică şi calitativ cu vîrsta paternul macromoleculelor elaborate de celulă. Există o condiţionare genetică care duce la scăderea sintezei de acid hialuronic începînd cu copilăria, la sinteza dermatan sulfatului înaintea heparan sulfatului, la producerea, începînd cu adolescenţa, a unor macromolecule de elastină mai bogate în aminoacizi polari etc. Această modificare calitativă a paternului de sinteză constituie un factor favorizant al apariţiei aterosclerozei.

3. ASPECTE GENERALE ALE P A T E R N-ULUI ENZIMATIC

Toate marile grupe de enzime sînt prezente în celula musculară netedă din peretele arterial, ceea ce explică şi complexitatea proceselor metabolice care au loc în respectiva celulă, implicînd: enzime ale glicolizei şi degradării glicogenului; enzimele ciclului Krebs; enzimele şuntului pentozic; enzime ale lanţului respirator; enzime ce cuplează legături bogate în energie cu contracţia musculară; enzime ale sistemului glioxalazic, precum şi alte enzime ce pot fi clasificate după natura reacţiei catalizate: oxidoreductazele, transaminazele sau aminotransferazele, pentoziltransferazele, hidrolazele, liazele, izomerazele etc. (ZEMPLENYI 1968; KIRK 1969). Dintre aceste enzime menţionăm:

— *dehidrogenazele:* lactică (Ec 1.1.1.27), succinică (EC 1.3.9. 1), malică (EC 1.1.1. 37), izocitrică (EC 1.1.1.42), α-glicerofosforică (EC 1.1.18.8),

Scanned with OKEN Scanner

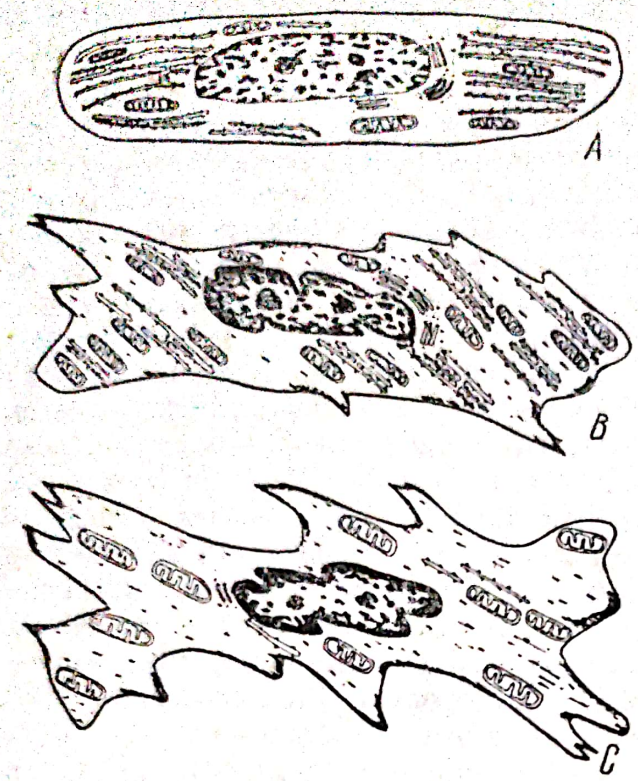
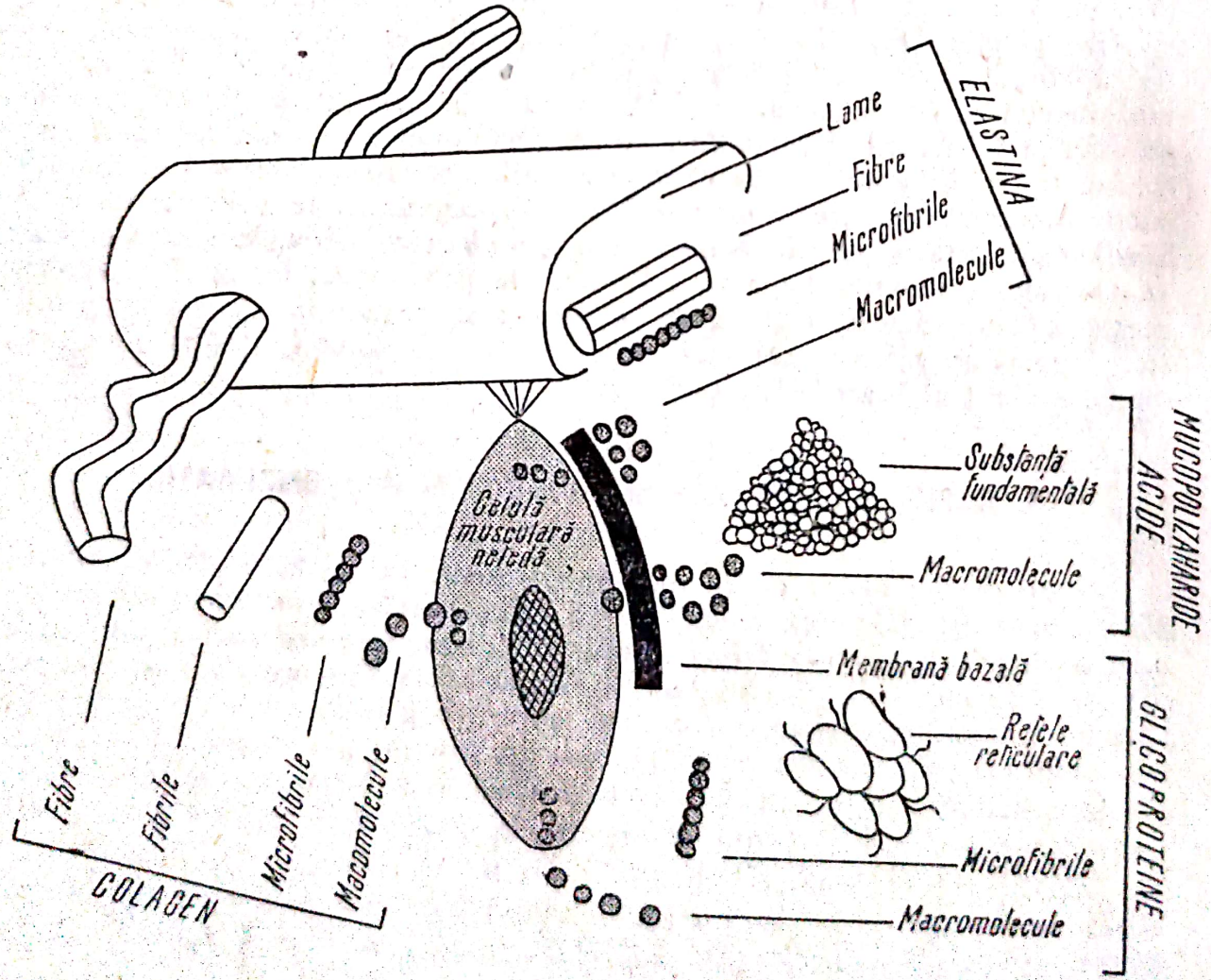


Fig. 24 Diagrama modificărilor ultrastructurale ale celulei musculare netede din aorta de şobolan în cursul primelor trei luni ale dezvoltării postnatale. La animalul nou născut (A) predomină în citoplasmă reticulul endoplasmic şi aparatul Golgi, reflectînd o intensă activitate de sinteză. La o lună după naştere (B) apar miofibrilele reflectînd dezvoltarea funcţiei contractile, iar la trei luni (C) citoplasma celulei este predominant constituită din aparatul contractil (după CLIFF 1967, cu permisiunea editurii Academic Press, New York).

Fig. 25 Organizarea ierarhică a principalelor componente constitutive ale peretelui arterial implicate în patogenia ateroscleroze: elastină, colagen, glicoproteine, mucopolizaharide acide. Macromoleculele precursoare, elaborate de celula musculară netedă, agregă dînd naştere substanţei fundamentale, microfibrilelor, membranei bazale, reţelelor reticulinice, fibrelor de colagen, fibrelor şi lamelor elastice (după VELICAN C. 1974, cu permisiunea editurii Gustav Fischer, Stuttgart, New York).



α-hidroxibutirică, precum și glucozo-6-fosfat (EC 1.1.1.49), 6-fosfogluconat (EC 1.1.1.44), sorbitolică (Ec 1.1.1.14), glutamică (EC1.4.1.2), β-hidroxiacil-coenzima A dehidrogenaza (EC 1.1.1.35);

— *esterazele:* acetilcolinesteraza (EC 3.1.1.7), pseudocolinesteraza (EC 3.1.1.8), acetilindoxilesteraza, acetilnaftol-esteraza (EC 3.1.1.), butirilnaftolesteraza, lipoproteinlipaza (EC 3.1.13);

— *fosfatazele:* adenozintrifosfataza (EC 3.6.1.3), adenozinmonofosfataza, creatinfosfokinaza (EC 2.7.3.2), 5-nucleotidaza (EC 3.1.3.5), fosfataza alcalină (EC 3.1.3.1.), fosfataza acidă (EC 3.1.3.2), glicogenpirofosforilaza (EC 2.4.1.1), uridin difosfoglucoză pirofosforilaza (EC 2.7.7.9);

— *glucozidazele:* hexokinază (EC 2.7.1.1), aldolază (EC 4.1.2.13), fosfofructokinază (EC 2.7.1.11), fosfoglucomutază (EC 2.7.5.1), ribozo-6-fosfat izomerază (EC 5.3.1.6) și numeroase alte glicozidaze care vor fi menționate în subcapitolele privind metabolismul mucopolizaharidelor acide și al glicoproteinelor din peretele arterial;

— *transaminaze* (*aminotransferaze*): aspartat aminotransferaza sau transaminaza glutamic-oxalacetică (EC 2.6.1.1.), alanină amino-transferaza sau transaminaza glutamo-piruvică (EC 2.6.1.2);

— *hidrolaze:* α-glucozidază (EC 3.2.1.20), β-glucozidază (EC 3.2.1.21), β-galactozidază (EC 3.2.1.23) β-N-acetilglucozaminidază (EC 3.2.1.30),β-glucuronidază (EC 3.2.1.31), leucin aminopeptidază (EC 3.4.1.1), catepsină (EC 3.4.4.23) etc.

Atît la om, cît și la animalele de laborator, apar activități diferite ca intensitate ale aceleiași enzime de la un teritoriu arterial la altul și chiar între diferite segmente aparținînd aceluiași pat arterial. Din datele existente în literatura de specialitate ar rezulta că la om activitatea fosfatazei acide este mai intensă în celulele musculare netede din segmentul abdominal al aortei comparativ cu cel toracic, pe cînd la numeroase animale de laborator s-au notat predominanțe inverse. Am menționat acest exemplu pentru a demonstra că transpunerea în patologia umană a observațiilor și datelor experimentale trebuie făcută cu multă prudență.

Înaintarea în vîrstă produce modificări importante ale *patern*-ului enzimatic din arterele mari și mijlocii, modificări considerate a favoriza apariția ateroscleroze. În acest sens menționăm diminuarea enzimelor ciclului Krebs după al patrulea deceniu al vieții, asociată cu o creștere a activității lactico-dehidrogenazei, fosfatazei acide, 5-nucleotidazei, fosfolipazei (ZEMPLENYI 1974).

Diferențele *patern*-ului enzimatic legate de sex merită de asemenea a fi luate în considerație. La femeile adulte 5-nucleotidaza este mai activă iar fosfataza acidă mai puțin activă, în comparație cu bărbații; diferențele dispar la bărbații tratați cu estrogeni. Tot la femei ar exista o activitate mai intensă a enzimelor TPNH-dependente în comparație cu bărbații (KIRK 1969); aceștia din urmă au însă mai active enzimele implicate în sinteza acizilor grași. La animalele de laborator se menționează variații ale activităților enzimatice în peretele arterial legate de evoluția ciclului ovarian (MALINOW și col. 1962, 1964).

S-au descris variații ale *patern*-ului enzimatic dependente și de starea funcțională a celulei musculare netede și de capacitatea ei de a răspunde la solicitări mai intense. Astfel, scăderea semnificativă a activităților fosforilazei,

creatin fosfokinazei şi ATP-azei au fost considerate a reflecta modificări de tip „atrofic" (KIRK 1963). Scăderea activităţii DPNH-diaforazelor ar indica alterări mitocondriale şi ribozomale, iar cea a aldolazelor şi 5-nucleotidazelor alterări nucleare. În sfîrşit, scăderea activităţii glicogen fosforilazei, fosfoglucomutazei, adenil pirofosforilazei, dehidrogenazei malice, glicoxalazei I şi leucin aminopeptidazei, ar reflecta alterări citoplasmatice. Aceste alterări pot fi considerate severe cînd se constată concomitent şi intensificări ale activităţii catepsinelor (OKA şi ANGRIST 1967).

4. ASPECTE PARTICULARE ALE P A T E R N-ULUI ENZIMATIC

Lactico-dehidrogeneza s-a bucurat de o atenţie specială în numeroase studii privind patogenia aterosclerozei, activitatea ei fiind corelată cu prevalenţa glicolizei anaerobe. Această activitate creşte progresiv cu înaintarea în vîrstă, paralel cu mărirea susceptibilităţii la ateroscleroză a arterelor (ADAMS 1967). Cînd grosimea intimei ajunge la aproximativ 0,50 mm, la graniţa dintre medie şi intimă apare o stare de hipoxie cronică şi intensificarea activităţii lactico-dehidrogenazei numai în regiunea respectivă. Concomitent se produce şi o schimbare în proporţia subunităţilor izoenzimelor, devenind evidente mai ales LDH_4 şi LDH_5. Activitatea crescută a lactico-dehidrogenazei paralel cu îngroşarea intimei, contrastează cu diminuarea activităţii altor dehidrogenaze, ordinea scăderii acestei activităţi fiind: lactică > malică > izocitrică (TPN-dependentă) > α-glicerofosfat > glucozo-6-fosfat > β-hidroxilbutirat > glutamică > succinică (ZEMPLENYI şi col. 1963). Această prevalenţă a lactico-dehidrogenazei, în comparaţie cu alte dehidrogenaze, reprezintă un fapt comun de observaţie în toate ţesuturile avasculare sau insuficient vascularizate (ZAMFIRESCU-GHEORGHIU şi col. 1967; BRUCKNER şi ZAMFIRESCU-GHEORGHIU 1969; ZAMFIRESCU-GHEORGHIU 1969). În condiţii fiziologice, aproximativ 40% din activitatea izoenzimelor lactico-dehidrogenazei este atribuită subfracţiei LDH_3 şi numai 15,6% fracţiei aerobe LDH_1 (ZEMPLENY 1974). Creşterea unităţilor anaerobe LDH_5, evidenţiază odată cu apariţia leziunilor de ateroscleroză, ar reflecta nevoile mărite tisulare de NAD, cu modificarea raportului $NADH/NAD^+$. Există un paralelism între creşterea proporţiei subunităţilor anaerobe şi a concentraţiei de acid lactic în peretele arterial. Menţionăm că în vena cavă, spre deosebire de aortă, principala subunitate a lactico-dehidrogenazei este fracţia aerobă LDH_1, în timp ce fracţiile anaerobe LDH_4 şi LDH_5 sînt absente.

Adenozin-trifosfataza (ATP-aza) prezintă un interes deosebit în peretele arterial, deoarece variaţiile activităţii ei influenţează capacitatea de contracţie a celulelor musculare netede şi implicit, tonusul vascular. Reglarea contracţiei se efectuează prin mecanisme care acţionează la patru nivele principale ale dispozitivului contractil: I) proteina capabilă de a se contracta; II) metabolismul energetic al celulei; III) cuplarea excitaţiei cu contracţia; IV) excitaţia. Discutarea fiecărei trepte în parte corelat cu rolul ATP-azei depăşeşte subiectul propus. În esenţă ar fi vorba de interacţiuni ciclice, ce iau naştere între protomerii de miozină şi ATP. Întrepătrunderea filamentelor ar genera contracţia care devine cu atît mai lentă cu cît se reduce activitatea enzimei. Această reducere poate fi condiţionată genetic, după cum poate fi indusă de hipoxie, înaintarea în vîrstă, boli cronice evo-

Scanned with OKEN Scanner

lutive, inhibitori locali, factori toxici aduşi cu componentele plasmatice etc. Un rol important în reglarea activităţii ATP-azei pare a fi jucat de cantitatea de calciu din celulă. Excitaţia determină un transfer de ioni de calciu din reticulul endoplasmic către anumite zone receptoare ale aparatului contractil. În concentraţii prea mari, calciul deprimă răspunsul contractil al celulei musculare netede şi se leagă de membrană, căreia îi măreşte stabilitatea dar îi diminuă excitabilitatea. În concentraţii prea mici, excitabilitatea membranei ca şi forţa de contracţie cresc, diminuarea cantităţii de calciu fiind evidenţiată după diete bogate în colesterol (CHEMEY şi col. 1975). Descărcările de catecolamine ar diminua, de asemenea, cantitatea de calciu care ajunge la miofilamente, mărind dependenţa activităţii ATP-azei de aportul de calciu din plasmă. În astfel de situaţii, excitabilitatea celulelor musculare din peretele arterial creşte foarte mult, putînd apare tendinţă la spasme, cu manifestări clinice de angină pectorală. Prin acest mecanism ar putea fi corelate descărcările de catecolamine, induse de stresuri psihice cu manifestările clinice de cardiopatie ischemică. În hipertensiunea arterială, dependenţa ATP-azei de cantităţi mai mari de calciu este de asemenea foarte evidentă, apărînd în plus o diminuare a numărului zonelor de legare a calciului pe membranele celulelor musculare netede. Drept urmare, pentru stabilizarea acestor membrane sînt necesare cantităţi mai mari de calciu la hipertensivi, în comparaţie cu normotensivii. Cînd deficienţa nu este compensată şi nivelul calciului se menţine coborît, cantităţi mici de catecolamine descărcate în circulaţie pot genera apariţia spasmelor în arterele coronare (BOHR şi SITRIN 1970). Aşa s-ar explica de ce efectul nociv al fumatului sau al anumitor stresuri psihice este mai evident în prezenţa unor valori crescute ale presiunilor sistolice şi diastolice.

Enzimele lizozomale din celulele musculare netede ale peretelui arterial au devenit în cursul ultimilor ani, un subiect special de investigaţie, avansîndu-se şi o teorie prin care aceste enzime sînt implicate în patogenia aterosclerozei (WOLINSKY 1976 a, b). În condiţii fiziologice, lizozomii alcătuiesc un sistem tampon ce controlează accesul materialelor străine în protoplasmă. Cînd acest aflux creşte considerabil, capacitatea hidrolitică a anumitor enzime poate fi depăşită şi apar procese acumulative. Depunerile pot fi detectate şi în condiţiile unui acces „moderat" dacă există o deficienţă genetic moştenită în activitatea anumitor glicozidaze, proteaze sau lipaze. S-a sugerat în acest sens prezenţa la anumiţi adulţi a unor cantităţi insuficiente de esteraze cu acţiune hidrolitică, favorizîndu-se astfel tezaurizarea în lizozomi a esterilor de colesterol (WOLMAN 1974). Acest defect de ordin genetic pare a exista la persoanele cu o mare susceptibilitate la ateroscleroză, precum şi la anumite păsări. Porumbeii din rasa White Carneau, susceptibili la ateroscleroza spontană, prezintă la 5—8 săptămîni de la ecloziunea oului o predominanţă tot mai netă a glicolizei anaerobe în peretele aortic, o diminuare a activităţii enzimelor ciclului Krebs şi un raport esterificare / hidroliza colesterolului de 1,21. Rasa rezistentă Show Racer, cu acelaşi mod de alimentaţie, aceleaşi valori ale colesterolemiei şi presiunii arteriale, nu prezintă creşterea cu vîrsta a glicolizei anaerobe în peretele aortic, iar raportul esterificare / hidroliza colesterolului este subunitar, respectiv de 0,73 (KRITCHEVSKY şi KOTHARI 1973). Aceste observaţii ar indica existenţa unor predominanţe genetice reflectate la White Carneau de formarea esterilor de colesterol, iar la Show Racer de hidroliza esterilor de colesterol.

Scanned with OKEN Scanner

În afara acestor deficienţe de ordin genetic, numeroşi factori generali sau locali pot potenţa activitatea enzimelor care sintetizează esterii de colesterol şi inhiba enzimele cu activitate hidrolitică. S-au notat creşteri peste normal ale esterificării colesterolului în lizozomii celulelor musculare netede din peretele arterial după fumat, stresuri psihice prelungite şi alte condiţii care duc la descărcări de catecolamine. Creşteri ale esterificării apar şi prin modificări ale constelaţiei endocrine, exemplul cel mai demonstrativ fiind hipotiroidismul. El măreşte rata de esterificare şi eliberările de acizi graşi din depozitele organismului, creind condiţii ce potenţează sinteza *de novo* a acizilor graşi în mitocondriile celulelor musculare netede sau/şi alungirea lanţurilor acizilor graşi preexistenţi. În intimele îngroşate ale arterelor de om, ritmul esterificării ar fi de 0,007 micromoli/oră/mg proteină în vasul normal şi de 0,065 micromoli/oră/mg proteină în vasul cu leziuni de ateroscleroză (ABDULLA şi col. 1968). S-a mai constatat că în absenţa unei degradări corespunzătoare a esterilor de colesterol neoformaţi sînt stimulate în lizozomi alte tipuri de enzime cu activităţi lipolitice. Această stimulare compensatoare duce la degradarea masivă a trigliceridelor de către lipaze, explicîndu-se astfel absenţa acumulării acestor lipide în leziunile de ateroscleroză.

Hipercolesterolemiile experimentale se asociază cu o creştere importantă a activităţii β-galactozidazei şi β-glucuronidazei şi mai puţin importantă a β-galactozaminidazei, fosfatazei acide, catepsinei, β-glucozaminidazei şi α-manozidazei (PETERS şi DE DUVE 1974). S-au mai notat, sub acţiunea hipercolesterolemiilor, activităţi crescute ale enzimelor ciclului Krebs şi a NADH-diaforazei, precum şi a aminooxidazelor (DICULESCU şi col. 1965) şi a N-acetil-galactozamil transferazei (BELON 1978), în timp ce diminuă semnificativ activităţile fosfodiesterazei, adenil ciclazei, AMP-ului ciclic (JURUKOVA şi BOSHKOV 1977) şi xilozil transferazei (BELON 1978). Am menţionat aceste exemple pentru a demonstra complexitatea modificărilor induse de hipercolesterolemiile experimentale asupra variatelor metabolisme ce au loc în celula musculară netedă din peretele arterial.

În afară de hipercolesterolemie, un alt factor de risc al aterosclerozei ce influenţează activitatea enzimelor lizozomale este hipertensiunea arterială. Sub acţiunea stresurilor hemodinamice intensificate şi mai ales a permeabilităţii endoteliale crescute, se înmulţesc lizozomii celulelor musculare netede din peretele arterelor mari şi mijlocii, iar activitatea enzimelor lor se dublează sau se triplează. Asocierea unui alt factor de risc, diabetul, duce, dimpotrivă, la o diminuare considerabilă a activităţii enzimelor lizozomale şi această scădere este semnificativă chiar în prezenţa hipercolesterolemiei şi a hipertensiunii arteriale (WOLINSKY şi col. 1978).

5. REŢINEREA ELECTIVĂ A β-LIPOPROTEINELOR

În culturi de ţesuturi, celulele musculare netede din peretele arterelor mari şi mijlocii prezintă capacitatea de a reţine în mod electiv macromoleculele de β-lipoproteine şi într-o mai mică măsură pe cele de pre β-lipoproteine, în timp ce macromoleculele de α-lipoproteine nu sînt reţinute.

Scanned with OKEN Scanner

Cu ajutorul radioizotopilor s-a putut constata că aproximativ 50% din cantitatea de β-lipoproteine care vine în contact cu membrana celulei musculare netede este fixată pe suprafaţa celulei. Reţinerea are un grad înalt de specificitate, fiind legată de prezenţa apolipoproteinei B în macromolecula de lipoproteină. În comparaţie cu şobolanul, reţinerea obţinută cu celulele musculare netede din aorta de om este de aproximativ 100 de ori mai mare, la aceeaşi cantitate de β-lipoproteine prezente în mediul de cultură (BIERMAN şi ALBERS 1976). Celula umană prezintă o electivitate similară şi dacă este pusă în contact cu β-lipoproteine de şobolan, după cum celula de şobolan prezintă aceeaşi lipsă de electivitate şi în prezenţa β-lipoproteinelor umane. Aceasta demonstrează că electivitatea reţinerii depinde de celulă şi nu de macromolecula de lipoproteină. Excesul de α-lipoproteine în mediul de cultură inhibă captarea specifică a acestor macromolecule; o anumită inhibare, de aproximativ trei ori mai redusă, apare şi prin exces de pre β-lipoproteine, dar nu şi prin exces de β-lipoproteine. Aceste rezultate pledează pentru afirmaţia deja menţionată privind rolul apolipoproteinei B în procesul de legare specifică pe suprafaţa celulei, conţinutul în apolipoproteină B fiind de trei ori mai redus în pre β-lipoproteine în comparaţie cu β-lipoproteinele.

Studii efectuate asupra fibroblaştilor au evidenţiat existenţa unor receptori de membrană specifici pentru captarea β-lipoproteinelor, receptori ce au fost apoi detectaţi şi în limfocite şi celule musculare netede din artere (GOLDSTEIN şi col. 1974; BROWN şi GOLDSTEIN 1976 a, b; GOLDSTEIN şi col. 1977; GOLDSTEIN şi BROWN 1977). Se consideră că aceşti receptori specifici ar fi formaţi din molecule de proteine şi de glicoproteine, putînd fi degradaţi prin tratare cu pronază, tripsină sau papaină. În schimb, rămîn nealteraţi după acţiunea unor enzime lizozomale cu efecte glicolitice (sialidază, α-glucozidază, α-manozidază, β-galactozidază, β-glucuronidază, heparinază etc.) sau după incubare cu fosfolipaze.

Receptorii nu sînt distribuiţi la întîmplare pe suprafaţa celulei, mai mult de 70% dintre ei fiind concentraţi într-o zonă de numai 0,5 μm, denumită „coated region"; în această zonă prezintă frecvenţa maximă şi aspectele de pinocitoză (BROWN şi GOLDSTEIN 1976, a, b). Dacă receptorii pentru β-lipoproteine sînt mai întîi saturaţi cu macromolecule şi apoi ţinuţi la temperatura de 4°C, invaginarea complexului macromoleculă — receptor şi formarea veziculelor de pinocitoză nu mai apar. Ridicarea treptată a temperaturii pînă la 37°C este urmată de invaginarea respectivelor complexe şi în decurs de aproximativ 10 minute toate macromoleculele de β-lipoproteine fixate pe receptorii specifici trec din poziţie extracelulară în poziţie intracelulară. Concomitent cu această schimbare iau naştere numeroase vezicule de pinocitoză sub membrana celulei, cu tendinţă de migrare spre zona centrală a citoplasmei, precum şi cu tendinţa de a fuziona cu veziculele lizozomale (GOLDSTEIN şi BROWN 1977). Tratarea prealabilă a celulelor cu inhibitori metabolici are acelaşi efect ca şi scăderea temperaturii: macromoleculele de β-lipoproteine sînt fixate pe membrana celulei prin intermediul receptorilor specifici dar nu se produce invaginarea complexului format şi deci nu pătrund în protoplasmă. Un rezultat similar se poate obţine dacă aceste macromolecule sînt în prealabil tratate cu substanţe care le modifică configura-

Scanned with OKEN Scanner

ţia sterică, cum ar fi de exemplu paraformaledihda sau etilmaleimida. Scade capacitatea macromoleculelor de β-lipoproteine de a se cupla cu receptorul specific şi dacă sînt blocate sarcinile electrice de suprafaţă; dimpotrivă, introducerea de grupări polare suplimentare potenţează pătrunderea intracelulară a acestor macromolecule, această pătrundere avînd loc nu numai prin intermediul cuplării cu receptorii specifici, ci şi sub aspectul pinocitozei nespecifice (GOLDSTEIN şi col. 1977).

Prin analogie cu fibroblaştii, se consideră că β-lipoproteinele pătrund şi în celulele musculare netede ca urmare a cuplării lor cu receptori specifici de suprafaţă, a invaginării complexului macromoleculă — receptor şi formării veziculelor de pinocitoză ce fuzionează cu veziculele lizozomale. După ce β-lipoproteinele au pătruns în lizozomi sînt supuse unor procese degradative complexe rezultînd aminoacizi, variate fosfolipide, acizi graşi liberi şi colesterol liber. Acesta din urmă provine fie din colesterolul liber existent în β-lipoproteine, fie din hidroliza esterilor de colesterol prezenţi în aceste macromolecule. Creşterea concentraţiei intracelulare a colesterolului liber determină: 1) Reducerea sintezei intracelulare a colesterolului printr-un mecanism *feedback* negativ; locul de acţiune ar fi HGM-CO reductaza din celulele musculare netede, enzimă despre al cărui rol în sinteza colesterolului vom prezenta date amănunţite în capitolul următor. 2) Activarea esterazelor cu acţiune de sintetaze şi în special a enzimei ACCAT (acilcoenzima A-colesterol aciltransferaza); din această activare rezultă o potenţare a esterificării colesterolului liber din lizozomi cu acid oleic. 3) Intensificarea sintezei *de novo* a acizilor graşi în mitocondriile celulelor musculare netede şi a alungirii lanţurilor celor preexistenţi, mărindu-se cantitatea de acizi graşi liberi şi în special de acid oleic necesar esterificării colesterolului. 4) Diminuarea sintezei receptorilor specifici pentru β-lipoproteine, rezultînd legarea unui număr mai mic de macromolecule şi pătrunderea intracelulară a unei cantităţi mai reduse de colesterol liber şi esterificat. În condiţii fiziologice aproximativ 10% din numărul total de receptori de suprafaţă pentru β-lipoproteine trebuie incontinuu sintetizaţi spre a-i înlocui pe cei ce prin invaginare sînt incluşi în formarea veziculelor de pinocitoză. Tot în condiţii fiziologice ar fi necesară o colesterolemie de numai 120—150 mg/100 ml spre a fi saturaţi cu β-lipoproteine toţi aceşti receptori specifici. Dacă nivelul colesterolemiei este mai mare, o parte din macromoleculele de β-lipoproteine care vin în contact cu suprafaţa celulelor musculare netede nu mai sînt captate prin intermediul receptorilor specifici, ci prin procese nespecifice de pinocitoză. Această depăşire a pragului celular de formare a complexelor macromoleculă — receptor a putut fi urmărită în mod dinamic prin adăugare de β-lipoproteine în medii de cultură ale celulelor musculare netede din peretele arterial (GOLDSTEIN şi BROWN 1977, 1978). Cînd cei aproximativ 10 000 receptori specifici sînt blocaţi, încep să pătrundă în celulă macromolecule de β-lipoproteine necuplate cu receptorul specific. Această pătrundere „nefiziologică" nu mai produce blocarea sintezei intracelulare a colesterolului, activarea esterificării intralizozomale a colesterolului liber şi nici diminuarea sintezei de receptori specifici de suprafaţă. Rezultă o supraîncărcare progresivă a celulei cu colesterol liber şi esterificat care poate determina moartea respectivei celule. Necroza elementelor musculare netede din peretele arterial după

Scanned with OKEN Scanner

diete bogate în colesterol a fost descrisă de mai multe decenii, sugerîndu-se că ar constitui faza ateromatoasă în evoluţia leziunilor de ateroscleroză (THOMAS şi col. 1968).

Pătrunderea intracelulară a β-lipoproteinelor prin intermediul receptorilor specifici ar depinde nu numai de valorile colesterolemiei, valori care nu trebuie să depăşească, teoretic, 120—150 mg/100 ml, ci şi de numărul de receptori de suprafaţă prezenţi în celulele musculare netede. Subiecţii genetic dotaţi cu un număr mai mare de astfel de receptori, se pot adapta unor valori mai ridicate ale colesterolemiei. Pacienţii cu formă heterozigotă a hipercolesterolemiei familiare au doar 40—50% din numărul normal de receptori şi prezintă depozite de esteri de colesterol în peretele arterial de la vîrste foarte tinere. Şi mai gravă este forma homozigotă a hipercolesterolemiei familiare la care receptorii lipsesc aproape complet şi depunerile de colesterol sînt prezente din copilărie, iar manifestările clinice ale cardiopatiei ischemice pot apare din al doilea deceniu al vieţii. Între aceste forme patologice şi normal există probabil stadii intermediare nedetectabile clinic, dar care favorizează acumulările intracelulare de colesterol. În plus, în afara β-lipoproteinelor, celulele musculare netede mai captează din circulaţie, prin pinocitoză nespecifică, şi resturi nedegradate ale chilomicronilor ce conţin mari cantităţi de colesterol liber şi esterificat. Nici pătrunderea acestui colesterol nu pune în mişcare mecanismele *feedback* negative apte să reducă sinteza intracelulară de colesterol şi de receptori specifici de suprafaţă, favorizînd astfel acumulările lipidice în celulele musculare netede.

Trebuie menţionat că nu tot colesterolul pătruns în celulă este depozitat în lizozomi sub forma esterilor de colesterol. O anumită parte din *pool*-ul de colesterol liber poate fi utilizat de către celulă pentru a înlocui colesterolul din membrane schimbat cu cel din α-lipoproteine, sau transferat acestor macromolecule. În condiţii fiziologice, raportul colesterol/fosfolipide din membrana celulelor musculare netede din peretele arterial este de aproximativ 1,0, în comparaţie cu 0,9 în hematii şi 0,6 în hepatocite (SMITH 1965 a). Creşterea acestui raport, indusă de colesterolul în exces este urmată de densificarea şi îngroşarea membranei celulelor musculare netede, precum şi de scăderea gradului de permeabilitate pentru anioni, cationi şi electroliţi (PAPAHADJOPOULOS 1974). Dacă se adaugă fosfolipide şi raportul revine către 1,0 aceste modificări dispar, fiind eficiente mai ales fosfolipidele care conţin acid linoleic (ACOSTA şi WENZEL 1974). Permeabilitatea membranei celulelor musculare netede este deci influenţată nu numai de concentraţia colesterolului, ci şi de gradul de nesaturare al lipidelor constitutive, la rîndul lui influenţat de tipul alimentaţiei. Excesul de colesterol în membrane poate duce la moartea celulei, prin inhibarea ATP-azei de transport, pierederea potasiului şi dezechilibrul grav al balanţei osmotice. Adaptarea la acest exces se face de multe ori prin proliferarea celulară, cantitatea de colesterol în exces fiind astfel repartizată pe mai multe celule fiice. Această „reacţie de acomodare" ar explica efectul stimulator asupra proliferării celulelor musculare netede observat după diete bogate în colesterol, sau după adăugare de β-lipoproteine la medii de cultură ale celulelor musculare netede din peretele arterial (JACKSON şi GOTTO 1976). Incapacitatea celulei de a se acomoda prin proliferare excesului de colesterol se reflectă prin apariţia de elemente cu protoplasmă spumoasă încărcate cu vacuole lipidice şi frecvent, prin necroza acestor celule cu liberarea extracelulară a materialului lipidic.

Scanned with OKEN Scanner

D. SUBSTANȚA FUNDAMENTALĂ (MUCOPOLIZAHARIDE ACIDE ȘI GLICOPROTEINE)

1. MUCOPOLIZAHARIDE ACIDE

a. DATE INTRODUCTIVE

Primele observații privind acumularea unui material metacromatic în pereții arterelor cu leziuni de ateroscleroză au fost publicate în secolul trecut (VIRCHOW 1856; WESTPHAL 1880; MORNER 1895). Cercetări ulterioare au demonstrat că acest material metacromatic este alcătuit din mucopolizaharide acide. Prin acest termen MEYER (1956) a definit polizaharide ce conțin hexozamine, folosirea prefixului „muco" indicînd o relație chimică cu mucinele epiteliale. În cursul ultimilor ani sînt folosiți tot mai des termenii de *„glicozaminoglicani"* și *„proteoglicani"* ca echivalenți ai mucopolizaharidelor acide; primul termen se referă la polizaharide ce conțin glucide aminate, al doilea la polizaharide legate de proteine. Problema dacă este utilă sau nu înlocuirea denumirii de mucopolizaharide acide cu cea de glicozaminoglicani sau proteoglicani rămîne un subiect controversat (JAQUES 1978).

Cu două decenii în urmă, mucopolizaharidele acide din peretele arterial erau considerate ca structuri chimice bine individualizate, avînd fiecare o denumire caracteristică: acid hialuronic, condroitin sulfat, heparină. Astăzi, acești termeni definesc *grupe de substanțe înrudite*, fiind identificate numeroase tipuri de acizi hialuronici cu greutăți moleculare diferite, 8 forme diferite de condroitin sulfați, peste 10 tipuri de substanțe heparinice, mai multe forme de heparitin sulfat etc. S-a ajuns la concluzia că *heterogenitatea structurală* este o particularitate a mucopolizaharidelor acide, ea devenind tot mai evidentă pe măsura perfecționării metodelor de extracție. Cît din această heterogenitate structurală corespunde stării native a mucopolizaharidelor acide și cît rezultă din artefacte metodologice este greu de precizat. Folosirea pe scară largă a extracțiilor enzimatice exhaustive, incubației prelungite cu substanțe chimice cu pH-uri foarte acide, ca și a metilărilor și oxidărilor, pun sub semnul întrebării „puritatea" substanțelor obținute. Greutatea izolării mucopolizaharidelor acide din artere, comparativ cu alte teritorii ale țesutului conjunctiv, se datorește legăturilor mai ferme între substanța fundamentală și fibre în intima și media vaselor. Existența acestor legături este reflectată nu numai de rezistența mucopolizaharidelor la metodele obișnuite de extracție, ci și de susceptibilitatea lor la enzime care nu le afectează structura dar degradează fibrele elastice și de colagen. Astfel, digestia cu elastază eliberează din peretele arterial o mare cantitate de heparan sulfat, iar digestia cu colagenază o mare cantitate de condroitin sulfați și de dermatan sulfat (RADHAKRISHNAMURTHY și col. 1975, 1977). Aceasta ar sugera că în peretele arterial structurile elastice sînt asociate în special cu heparan sulfatul, iar cele colagene cu condroitin și dermatan sulfații. Asocierea ar include: *a*) existența unor legături de tip covalent între mucopolizaharidele acide și proteinele fibrilare; *b*) formarea de complexe insolubile între mucopolizaharide, colagen și elastină, în prezența ionilor de calciu și de magneziu; *c*) un grad ridicat de secvestrare fizică a mucopolizaharidelor în rețeaua fibrilară. Se sugerează existența unor legături specifice colagen-condroitin sulfați și elastină-heparan sulfat, dar natura lor nu este încă bine cunoscută (RAD-

Scanned with OKEN Scanner

HAKRISHNAMURTHY şi col. 1977). Folosirea metodelor exhaustive de extracţie sau a digestiilor enzimatice ce degradează fibrele nu sînt suficiente pentru izolarea tuturor mucopolizaharidelor din peretele arterial şi nici nu permit obţinerea unui grad satisfăcător de puritate. Astfel, glicina, serina, prolina, acidul glutamic sînt frecvent prezente în fracţiile cele mai purificate ale condroitin sulfaţilor, în timp ce alanina, acidul aspartic şi prolina „contaminează" dermatan sulfatul. S-a mai constatat că diferiţi componenţi ai aceleiaşi clase de mucopolizaharide pot exista cu variate grade de agregare şi pot prezenta susceptibilităţi diferite la extracţiile chimice.

Cantitatea de mucopolizaharide acide prezente în peretele arterial variază între 0,3 şi 2,7% din greutatea uscată, variaţiile fiind dependente de vîrstă, sex, teritoriu vascular analizat, iar la animalele de laborator şi de specia respectivă. La om proporţia cea mai des întîlnită este de aproximativ 1%, în comparaţie cu 37% colagen, 31% elastină, 6,3% lipide şi 0,7% glicoproteine. Procentele menţionate se referă la aortă. În vena cavă au fost evidenţiate doar 0,2% mucopolizaharide acide, de aproximativ 5 ori mai puţin decît în aortă. Din totalul mucopolizaharidelor acide din aortă, 41% sînt condroitin sulfaţi, 39% acid hialuronic, 11% dermatan sulfat şi 9% heparan sulfat. În vena cavă acidul hialuronic constituie 89% din totalul mucopolizaharidelor, restul de 11% fiind reprezentat de dermatan sulfat (BUDDECKE şi KRESSE 1969). Diferenţa dintre cantitatea de mucopolizaharide prezentă în artere şi în vene şi dintre paternul acestor mucopolizaharide a fost interpretată în sprijinul ipotezei ce consideră alterarea metabolismului acestor substanţe ca mecanismul iniţial al aterogenezei (HAUSS şi col. 1968; LINDNER 1969, 1978).

Deşi în concentraţie de numai aproximativ 1%, mucopolizaharidele acide joacă un rol fundamental în asigurarea permeabilităţii selective a substanţei fundamentale a peretelui arterial, în special în intimele îngroşate. Dinamica permeabilităţii intimei variază în funcţie de compoziţia chimică, gradul de polimerizare şi sarcinile electrice de suprafaţă ale mucopolizaharidelor. Legăturile electrostatice dintre un polianion şi o proteină fibrilară sau globulară sînt puternic influenţate de concentraţia ionică şi pH-ul mediului. De exemplu heparina, heparan sulfatul şi dermatan sulfatul leagă în condiţii fiziologice lipoprotein lipaza, dar această capacitate de legare este inhibată dacă se măreşte concentraţia ionică peste o anumită limită. Ataşarea mucopolizaharidelor acide la macromolecule de colagen se face la început tot prin legături electrostatice puternic dependente de concentraţia ionică şi de pH, acestea influenţînd şi rata formării fibrelor. Există şi specificităţi de reacţie, la aceeaşi concentraţie ionică şi acelaşi pH, dermatan sulfatul legînd mai ferm macromolecula de colagen decît condroitin sulfaţii. În timp ce leagă anumite macromolecule, mucopolizaharidele acide din peretele arterial exercită asupra altor macromolecule efecte repulsive, excluzîndu-le din masa substanţei fundamentale sau determinînd precipitarea lor. Capacitatea de excludere se exercită în special asupra proteinelor globulare şi este atît de puternică încît experimental, aceste proteine nu pot pătrunde în anumite soluţii de mucopolizaharide. S-a mai constatat, folosindu-se proteine serice, o scădere a solubilităţii lor în prezenţa mucopolizaharidelor, scădere cu atît mai marcată cu cît diametrul proteinei globulare este mai mare. S-au observat frecvent precipitări şi ale complexelor antigen-anticorp în prezenţa mucopolizaharidelor acide. Efectul de „sită" exercitat de substanţa fundamentală s-ar

Scanned with OKEN Scanner

datora unui mod particular de organizare macromoleculară cu caracter plurifazic, avînd doi poli extremi: 1) o fază mai permeabilă, bogată în apă şi săracă în coloid; 2) o fază greu permeabilă, săracă în apă şi bogată în coloid. Prima ar include mucopolizaharide acide cu lanţuri scurte, permiţînd formarea unor ochiuri largi prin care pot trece proteinele globulare; a doua ar include mucopolizaharide cu lanţuri lungi, puternic intricate, formînd o reţea cu ochiuri mici, de tip „sită deasă", prin care pot pătrunde doar molecule cu diametre sub 100 Å. Între aceste două tipuri ar exista numeroase forme intermediare, ce s-ar găsi în echilibru labil, permiţînd înlocuirea rapidă a unei configuraţii cu alta (GERSH şi CATCHPOLE 1949). La microscopul electronic, după coloraţia cu roşu ruteniu, mucopolizaharidele acide din aceste complexe coloidale ale substanţei fundamentale apar sub aspectul unor granule dense la fascicolul de electroni, cu diametre variind între 300 şi 500 Å. Pot prezenta şi prelungiri filamentoase fine şi aspecte de agregare în ciorchine a granulelor. Se menţionează ca un aspect mai deosebit şi poziţia acestor granule în jurul fibrelor de colagen şi elastice, suprapunîndu-se periferiei acestor fibre. Imagini similare au fost întîlnite şi în sinovială, cartilaj şi cornee (TRILLO 1977). Asupra rolului mucopolizaharidelor acide în permeabilitatea selectivă a intimei arterelor şi în procesele de fibrilogeneză ce au loc în peretele vascular vom reveni în paginile următoare. Mai menţionăm că mucopolizaharidele acide din peretele arterial exercită şi acţiuni anticoagulante, mai ales heparan sulfatul, dermatan sulfatul şi condroitin sulfaţii suprasulfataţi (MURATA şi col. 1978).

Într-o lucrare recentă (VELICAN C. şi VELICAN 1978 c) am demonstrat, prin metode histochimice, o mare heterogenitate structurală, a compoziţiei chimice şi a modului de agregare a mucopolizaharidelor acide din peretele arterelor coronare. Această heterogenitate a fost corelată cu vîrsta, tipul de ramificaţie al arterelor coronare, diametrul segmentului vascular, existenţa de zone de bifurcaţii şi emergenţe, caracterul terminal sau colateral al anumitor ramuri, histologia intimei, integritatea structurală a limitantei elastice interne. Heterogenitatea devine şi mai evidentă cu apariţia striurilor lipidice, plăcilor gelatinoase, încorporărilor de microtrombi şi mai ales cu formarea plăcilor fibroase. La nivelul principalelor zone de bifurcaţii şi emergenţe s-au evidenţiat *patern*-uri diferite ale mucopolizaharidelor din segmentul zonei de intrare, din segmentul pintenului de ramificaţie şi din segmentul paraostial. Aceste rezultate au demonstrat că valoarea totală a mucopolizaharidelor, ca şi valoarea unui anumit tip raportată la un pat vascular, au o semnificaţie discutabilă atîta timp cît nu se iau în consideraţie particularităţile locale. Afirmaţia menţionată trebuie corelată cu observaţiile datînd de peste un secol asupra caracterului localizat al dezvoltării plăcilor aterosclerotice, ce apar în anumite zone de elecţie în fiecare teritoriu vascular. De aceea, cunoaşterea modificărilor locale ale paternului chimic şi de agregare a mucopolizaharidelor poate avea o importanţă mai mare în patogenia aterosclerozei decît variaţiile cantitative globale în întregul segment arterial.

b. ACIDUL HIALURONIC

Lanţurile polizaharidice sînt alcătuite din repetarea dizaharidului glucozamină-acid glucuronic; aceste lanţuri neramificate, dar intens intricate, formează o reţea cu ochiuri strînse prin care macromoleculele nu pot trece. *In*

Scanned with OKEN Scanner

vitro, „sita" formată de acidul hialuronic apare de la concentraţii de numai 0,01% şi devine evidentă la 0,1%, inferioară celei din peretele arterial. Datorită existenţei reţelei dense formate de lanţurile întrepătrunse ale acidului hialuronic, substanţa fundamentală din arterele de copil este practic impermeabilă pentru lipoproteine şi fibrinogen şi în general pentru toate macromoleculele cu o greutate peste 150 000 şi un diametru peste 100 Å. Toţi factorii generali sau locali care degradează acidul hialuronic din peretele arterial (eliberare de hialuronidaze streptococice, de enzime lizozomale de tip hialuronidazic, iradiaţii cu raze X etc.) favorizează acumulările β-lipoproteinelor şi fibrinogenului în intimele îngroşate. În acelaşi sens aterogen poate fi considerată a acţiona şi reducerea, genetic programată, a cantităţii de acid hialuronic din peretele arterial ce apare în perioada de vîrstă 3—5 ani (VELICAN C. 1967, 1974, VELICAN C. şi VELICAN 1971, 1978 c). S-a sugerat că această diminuare a sintezei acidului hialuronic de către celula musculară netedă din peretele arterial ar afecta şi integritatea structurală şi funcţională a lamelor şi limitantelor elastice. Ţesutul elastic, intens hidrofob, necesită prezenţa permanentă a apei spre a putea răspunde solicitărilor mecanice. Această prezenţă este asigurată de pătrunderea acidului hialuronic, intens hidrofil, printre macromoleculele de elastină. Cînd proporţia acidului hialuronic faţă de totalul mucopolizaharidelor acide din peretele arterial se reduce de la 39% la 16%, apar constant fragmentări, rupturi şi degradări ale structurilor elastice (LIKAR şi col. 1968).

c. CONDROITIN SULFAŢII

Sub această denumire se include o clasă de substanţe înrudite ce prezintă modificări cantitative semnificative odată cu înaintarea în vîrstă şi cu apariţia leziunilor de ateroscleroză. Au fost evidenţiate, de asemenea, variaţii cantitative în cursul proceselor de remodelare şi reparare la agresiuni mecanice, fizice, chimice şi biologice.

După cum am mai menţionat, există o mare heterogenitate structurală a acestei clase de mucopolizaharide, reflectată prin polidispersitatea greutăţilor moleculare, variabilitatea componentelor antigenice, a compoziţiei aminoacizilor, precum şi prin diferenţele conţinutului în glucozamină şi galactozamină, a raportului proteină / polizaharid, a gradului de agregare, a bogăţiei grupelor sulfat etc. Lucrările din ultimii ani au demonstrat un grad de heterogenitate structurală şi mai mare decît se considerase iniţial, întrucît s-a constatat asocierea frecventă, în acelaşi complex macromolecular, a condroitin sulfaţilor cu dermatan şi keratan sulfatul.

În peretele aortic condroitin sulfaţii ar include 19,7% proteine, 121 micromoli/mg galactoză, 1,19 micromoli/mg acid uronic şi 1,26 micromoli/mg sulfat (BUDDECKE şi KRESSE 1969). Principalii condroitin sulfaţi izolaţi din peretele arterial au fost iniţial denumiţi cu literele A, B şi C; ulterior condroitin sulfatul B a fost prezentat şi sub denumirea de dermatan sulfat, în timp ce condroitin sulfaţii A şi C sînt deseori denumiţi şi condroitin 4 şi respectiv 6 sulfat. Forma A are ca structură de bază complexul acetilgalactozamină, 4-acid sulfoglucuronic; forma C, acetilgalactozamină, 6-acid sulfoglucuronic, iar forma B sau dermatan sulfatul, acetilglucozamină, ?-acid sulfoiduronic. Toţi aceşti compuşi conţin cantităţi variabile şi de alte tipuri de dizaharide. Astfel s-a evidenţiat un condroitin sulfat A ce conţine 2-acetil,

Scanned with OKEN Scanner

4-sulfogalactozamină și 2-acetil, 6-sulfogalactozamină, avînd o structură apropiată de condroitin sulfatul C, denumirea de 4-sulfat sau 6-sulfat indicînd o predominanță și nu o particularitate absolută. Și în condroitin sulfatul B sau dermatan sulfat s-au detectat dodecazaharide compuse din unități ale condroitin sulfatului A (acid glucuronic, 2-acetil, 4-sulfogalactozamină) ceea ce constituie o dovadă în plus a polidispersității și heterogenității structurale a acestei clase de mucopolizaharide. Ea include un număr mare de compuși al căror registru se întinde între formele nesulfatate, (condroitinul) și cele suprasulfatate, acestea din urmă avînd proprietățile heparinoizilor semisintetici. Condroitinul reprezintă aproximativ 12% din totalul condroitin sulfaților prezenți în peretele arterial și este considerat un precursor al formelor sulfatate. Formele suprasulfatate sînt cele mai importante deoarece au acțiune antiaterogenă prin bogăția în grupe sulfat. Datorită supraîncărcării cu sarcini electrice negative de suprafață, formele suprasulfatate ale condroitin sulfaților exercită acțiuni anticoagulante de tip heparinic și inhibă sinteza colesterolului, fiind recomandate în terapeutica aterosclerozei (MURATA și FURUHASHI 1969). Rezultate bune sînt menționate a fi obținute și cu un condroitin polisulfatat preparat pe cale sintetică, conținînd 15,7% grupe sulfat ca urmare a unei sulfatări adiționale a condroitin 6-sulfatului. De asemenea unele lucrări semnalează rezultate încurajatoare după folosirea carageninei conținînd 11,86% grupe sulfat, a laminarin sulfatului cu 17,43% grupe sulfat, a acidului alginic sulfatat și a altor polizaharide acide vegetale, cărora li s-a introdus, în mod artificial, un anumit număr de grupe sulfat. Administrate intravenos la iepurii ținuți la diete bogate în colesterol, aceste substanțe au produs o scădere a hipercolesterolemiei, au inhibat sinteza lipidelor în peretele arterial și au întîrziat apariția leziunilor de ateroscleroză experimentală. Concomitent cu efectele asupra metabolismului lipidelor, s-ar produce și o prevenire a trombozelor, datorită mai ales scăderii sintezei de trigliceride ce conțin acizi grași cu potențialități trombogene. Atît la condroitin sulfații naturali, cît și la cei preparați artificial, eficiența acțiunii antiaterogene ar crește paralel cu gradul de sulfatare (MURATA și col. 1969). Mai menționăm ameliorările obținute după administrare de condroitin 4-sulfat, în doze de 4—6 mg/zi timp de 8—22 săptămîni, sau de condroitin 6-sulfat. Un grup tratat timp de 18 luni, incluzînd 60 pacienți cu manifestări clinice de ateroscleroză, a prezentat în cursul tratamentului un singur caz de infarct de miocard, în timp ce la lotul netratat, de vîrstă similară, au apărut 13 accidente vasculare coronariene (MORRISON 1968). Pe de altă parte, se menționează la animalele susceptibile la ateroscleroză, cantități mai mari de condroitin 6-sulfat în artere în comparație cu animalele rezistente la ateroscleroză (GARDAIS și col. 1973). La porumbeii din rasa White Carneau, susceptibili atît la ateroscleroza spontană cît și la cea experimentală, zonele unde vor apare plăcile aterosclerotice prezintă o creștere masivă a cantității de mucopolizaharide acide și mai ales a condroitin 6-sulfatului. Această creștere nu se produce la rasa Show Racer rezistentă la ateroscleroză (CURWEN și SMITH 1977). O analiză privind „izomerii" de condroitin sulfat din arterele de om susceptibile la ateroscleroză, efectuată cu ajutorul digestiilor specifice cu condroitinaze și sulfataze, a evidențiat valorile prezentate în *tabelul IV*. Rezultatele demonstrează că dermatan sulfatul (condroitin sulfatul B) este prezent în peretele arterelor de om susceptibile la ateroscleroză în cantități mai mari decît condroitin 4-sulfatul și mai mici

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL IV

Valorile procentuale ale diferitelor tipuri de condroitin sulfaţi din artere susceptibile la ateroscleroză (după MURATA şi col. 1968, cu aprobarea editurii Associated Scientific Publishers-Elsevier, Amsterdam)

Artere:	condroitin 4 — sulfat	condroitin 6 — sulfat	dermatan sulfat
Aorta toracică	22.1	54.8	23.1
Artere cerebrale	18.0	51.0	31.0
Artere coronare	26.0	54.0	20.0

decît condroitin 6-sulfatul (MURATA şi col. 1968). Din toate aceste date incluzînd aspecte terapeutice, investigaţii experimentale şi dozări biochimice nu se poate trage decît concluzia rolului complex aterogen şi antiaterogen al condroitin sulfaţilor. Cercetări viitoare vor aduce probabil clarificările necesare spre a înţelege în ce condiţii se exercită fiecare din aceste acţiuni.

Macromolecula de condroitin sulfat din peretele arterial conţine un număr de aproximativ 60 de lanţuri polizaharidice legate de un nucleu central proteic, de care sînt ataşate fie în mod independent, fie cuplate. Deoarece lanţurile polizaharidice poartă sarcini electrice negative, uniform distribuite de-a lungul respectivelor lanţuri, ar exista o forţă de repulsie reciprocă între macromolecule şi între lanţurile aceleiaşi macromolecule. Cu cît sarcinile electrice vor fi mai numeroase, lanţurile vor rămîne mai drepte şi mai îndepărtate unele de altele şi invers. Proteinele bazice incluse în componentele plasmatice ce traversează peretele arterial, ca şi macromoleculele de elastină şi de colagen, blochează o parte din aceste grupe acide, diminuînd forţa de repulsie dintre lanţuri şi favorizînd contractarea lor. Aceasta ar permite un transport mai liber în jurul macromoleculei, respectiv o mărire a permeabilităţii substanţei fundamentale. În plus, prin blocarea sarcinilor electrice negative libere, acestea nu mai resping substanţele încărcate cu sarcini electrice similare, fiind posibilă trecerea prin substanţa fundamentală atît a cationilor, cît şi a anionilor, aşa cum sugerează *fig. 26*. Într-o macromoleculă de condroitin sulfat incluzînd aproximativ 60 lanţuri polizaharidice ataşate pe nucleul central proteic ar exista peste 2 000 de sarcini electrice negative libere, apte a reacţiona cu cationii din mediul înconjurător. Problema dacă aceste grupări libere pot lega preferenţial ionii de potasiu sau de sodiu, de magneziu sau de calciu este încă un subiect controversat. Hialuronidaza testiculară, perfuzată în segmente arteriale izolate, determină scăderea reactivităţii arterei faţă de stimulii contractili, scădere reprezentînd peste 65% în comparaţie cu vasul martor. Factorul care produce această diminuare ar fi pierderea a aproximativ 33% din sodiul prezent în peretele arterial (HARRIS şi PALMER 1971). Pierderea sodiului diminuă în special răspunsul contractil la stimularea simpatică şi după administrarea de noradrenalină. În hipertensiunea arterială, hiperreactivitatea vasculară a fost corelată cu capacitatea crescută a condroitin sulfaţilor de a lega ionii de sodiu.

d. DERMATAN SULFATUL

Are o structură chimică asemănătoare condroitin sulfaţilor A şi C, diferenţa majoră constituind-o prezenţa acidului iduronic împreună cu cel glucuronic. În rest, aceleaşi legături uronidice β1—3 şi hexozaminidice β1—4, ca

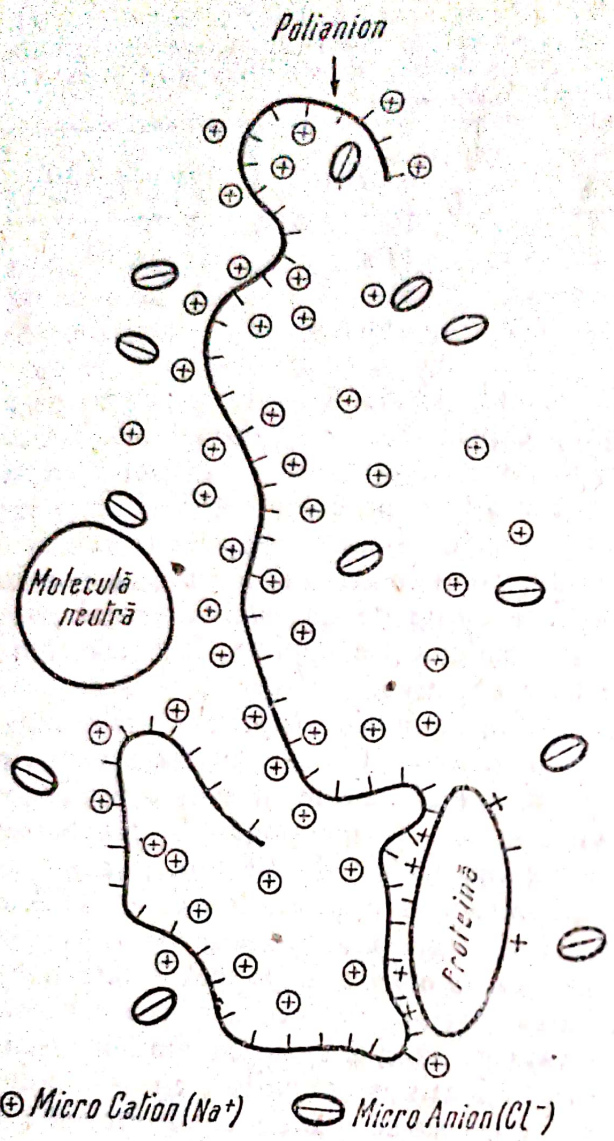


Fig. 26 Reprezentare schematică, bidimensională, a configurației unui polianion de tipul mucopolizaharidelor acide din substanța fundamentală a peretelui arterial; este, de asemenea, sugerată interrelația cu micro- și macromolecule pătrunse împreună cu componentele plasmatice, în grosimea intimei și a mediei arterelor. Microcationii ajung pînă în vecinătatea lanțurilor mucopolizaharidelor, în timp ce microanionii sînt ținuți la o anumită distanță. [Se mai poate observa: legarea proteinelor prin grupări cationice și excluderea moleculelor neutre din regiunea spiralată a polianionului (după MATHEWS 1967, cu permisiunea editurii Williams și Wilkins, Baltimore).

și prevalența galactozaminei ca hexozamină. Acidul iduronic a fost detectat și în substanțe de tip heparinic, capacitatea antilipemică și anticoagulantă a dermatan sulfatului fiind atribuită prezenței acestui acid. Segmentele din lanțul polizaharidic al dermatan sulfatului ce conțin acid glucuronic pot fi hidrolizate de hialuronidaze, în timp ce segmentele bogate în acid iduronic rămîn nedigerate. Dizaharidul cel mai des întîlnit după digestia enzimatică este 4, sulfogalactozamină, 2 sau 3-sulfo-acid glucuronic.

Investigațiile noastre au detectat primele acumulări de dermatan sulfat în arterele coronare la 2—3 luni după naștere (VELICAN C. și VELICAN 1978 c). Existența acestor acumulări a fost corelată cu un proces intens de fibrilogeneză colagenă (ZUGIBE 1962). În anumite investigații, dermatan sulfatul a apărut ca mucopolizaharidul acid al peretelui arterial ce prezintă cea mai mare creștere cu apariția leziunilor de ateroscleroză (TAMMI și col. 1978).

e. HEPARINA

Prezența heparinei în substanța fundamentală a peretelui arterial este greu de evidențiat ca și acumularea sub forma unui film pe suprafața luminală a celulelor endoteliale. Injectată intravenos, se „asociază" mai rapid cu endoteliul arterelor decît cu substanța lor fundamentală (HIEBERT și JAQUES 1976). S-ar acumula și în joncțiunile intercelulare din endoteliu și în liniile de „ciment" de pe suprafața celulelor. Cînd această acumulare atinge un anumit prag, heparina exercită acțiuni anticoagulante, împiedică formarea trombilor și potențează activitatea lipoprotein lipazei. Celula endotelială ar regla aceste efecte multiple ale heparinei nu numai prin legarea ei pe suprafața endoteliului, ci și printr-un ritm de catabolizare intracelulară adecvat

Scanned with OKEN Scanner

nevoilor locale. Sînt necesare cantităţi extrem de mici de heparină pentru a acţiona ca un cofactor capabil să elibereze lipoprotein lipaza din legăturile sale cu endoteliul şi să-i asigure stabilitatea structurală pentru producerea catalizei enzimatice. Cînd catabolizarea heparinei de către celulele endoteliale se intensifică, scade concentraţia heparinei acumulată pe endotelii, lipoprotein lipaza nu mai este stimulată şi implicit creşte valoarea trigliceridemiei.

Consumul continuu de heparină sugerează necesitatea existenţei continue a unei concentraţii limită, sub care enzima nu mai poate fi activată. Pare probabil ca heparina să se lege de componente proteice ale lipoprotein lipazei, dîndu-le o anumită stabilitate şi configuraţie sterică favorabilă acţiunii enzimei asupra trigliceridelor. Se susţine, de asemeni, posibilitatea cuplării heparinei cu fracţia fosfolipidică a lipoprotein lipazei. După ce lipoliza s-a produs, legătura dintre heparină şi apoenzimă se desface, mucopolizaharidul este catabolizat lipoprotein lipaza este inactivată, apoi ciclul reîncepe cu utilizarea unei noi cantităţi de heparină (ENGELBERG 1977).

Efectele anticoagulante ale heparinei sînt cele mai bine cunoscute, dar grupele funcţionale specifice implicate în această activitate complexă şi mecanismul interacţiunii cu factorii de coagulare sînt doar în parte clarificate. Heparina interferează coagularea sîngelui prin două mecanisme principale: *a*) inhibarea activării secvenţiale a factorilor XII, XI şi IX; *b*) potenţarea antitrombinei în prezenţa unui factor de tip α-globulinic. S-au investigat efectele asupra coagulării sîngelui rezultate din modificarea anumitor grupări ale heparinei sau ale structurii mucopolizaharidului. Rezultatele demonstrează că afectarea glucozaminei, acidului glucuronic, acidului iduronic, grupelor sulfat (N-sulfat şi O-sulfat), precum şi a grupelor carboxil este urmată de scăderea globală a tuturor activităţilor specifice (DANISHEFSKY 1977). S-a mai sugerat că particularităţile funcţionale ale heparinei ar rezulta şi din alternanţa unor unităţi dizaharidice disulfatate şi trisulfatate (SILVIA şi DIETRICH 1975), sau a prezenţei unor hexazaharide conţinînd 8 grupe sulfat, 3 glucozamine şi 3 rezidii de acid uronic (JAQUES 1978). Acest hexazaharid are structura: 2×(2,6 disulfoglucozamină 2-acid sulfoiduronic) — (2,6 disulfoglucozamină acid glucuronic). Spre deosebire de acidul hialuronic şi condroitin sulfaţi, legăturile în macromolecula de heparină sînt de tip α-glucozidic, configuraţia α constituind o particularitate fizico-chimică a compuşilor de tip heparinic.

Pentru efectele sale asupra metabolismului lipidelor şi coagulării sîngelui, heparina a fost mucopolizaharidul acid cel mai larg utilizat în tratamentul aterosclerozei şi în special a complicaţiilor ischemice rezultînd din apariţia trombozelor.

Implicarea heparinei în patogenia aterosclerozei pare însă a fi mai complexă decît cea menţionată anterior. În doze capabile de a prelungi în mod semnificativ timpul de coagulare, heparina produce şi o inhibare a proliferării celulelor musculare netede din peretele arterial. Pe de altă parte, acumularea ei pe suprafaţa endotelială nu inhibă regenerarea endoteliului în zonele erodate (sub aspectul mitozelor şi al migrării celulelor) şi nici nu împiedică aderarea trombocitelor la elementele fibrilare din zona subendotelială (CLOWES şi KAROVSKY 1977). Mecanismul inhibării proliferării celulelor musculare netede nu este cunoscut, sugerîndu-se atît acţiuni directe asupra celulelor, cît şi inactivarea factorului de proliferare eliberat de trombocite. Acest factor este constituit dintr-o proteină bazică ce poate fi uşor legată de

Scanned with OKEN Scanner

grupele sulfat ale heparinei şi astfel inactivată înainte de a pătrunde în grosimea peretelui arterial. Dacă se consideră proliferarea celulelor musculare din media şi intima arterelor ca un stadiu fundamental al proceselor de reparare şi regenerare, atunci heparina poate constitui un agent de inhibare al acestor procese. De altfel numeroase lucrări menţionează cicatrizări întîrziate sau incomplete ale plăgilor din piele şi ulceraţiilor tubului digestiv, neconsolidarea fracturilor etc., sub acţiunea prelungită a unor doze de heparină considerate eficiente în a împiedica procesul de coagulare.

f. HEPARAN SULFATUL

Cunoscut şi sub denumirea de heparitin sulfat, a fost considerat iniţial un produs al catabolismului heparinei. Ulterior s-a demonstrat că este vorba de o entitate chimică şi biologică ce reprezintă 1/3—1/4 din totalul mucopolizaharidelor acide din peretele arterial. În intimele îngroşate coexistă cu cantităţi mari de dermatan sulfat, asociere unică în organism sub aspectul cantitativ din aortă, artere coronare şi artere cerebrale.

Comparativ cu heparina, prezintă un grad mai redus de sulfatare, dar un număr mai mare de grupări acetil. Unităţile repetabile din lanţul polizaharidic constituie un subiect controversat, datele ce se acumulează evidenţiind o importantă microheterogenitate structurală. Aceasta sugerează că denumirea de heparan sulfat include o serie de substanţe înrudite, dar nu similare din punct de vedere al compoziţiei chimice şi greutăţii moleculare. Se menţionează existenţa de heparitin A, B, C şi D, cu susceptibilităţi diferite la variate tipuri de heparitinaze (JAQUES 1978).

Avînd o acţiune anticoagulantă mai redusă decît heparina, utilizarea heparan sulfatului în tratamentul aterosclerozei este foarte limitată. În anumite modele experimentale, administrarea acestei substanţe a întîrziat apariţia leziunilor, acţionînd mai ales prin potenţarea activităţii lipoprotein lipazei (GROSSMAN şi col. 1971).

O observaţie care a atras atenţia cercetărilor este prezenţa unor cantităţi crescute de heparan sulfat în arterele speciilor de animale rezistente la ateroscleroza spontană şi experimentală (GARDAIS şi col. 1973). Într-un studiu asupra paternului mucopolizaharidelor acide la diferite specii de maimuţe s-a constatat că rezistenţa la ateroscleroza spontantă şi experimentală creşte paralel cu raportul heparan sulfat / condroitin sulfaţi + dermatan sulfat (RADHAKRISHNAMURTHY şi col. 1978). Porumbeii din rasa Show Racer, rezistentă la ateroscleroză spontană şi experimentală, au în peretele aortic mai mult heparan sulfat în comparaţie cu rasa White Carneau, susceptibilă la ateroscleroză (CURWEN şi SMITH 1977). Astfel este reactualizată şi confirmată o ipoteză menţionată cu aproximativ un deceniu în urmă conform căreia heparan sulfatul este mucopolizaharidul acid care conferă arterelor rezistenţă la apariţia plăcilor aterosclerotice (MULLINGER şi MANLEY 1969).

g. KERATAN SULFATUL

Nu s-a putut încă demonstra dacă există în substanţa fundamentală a arterelor ca mucopolizaharid independent sau coezistă în aceeaşi macromoleculă cu condroitin sulfaţii. Principala particularitate structurală este lipsa acidului uronic, înlocuit de galactoză. În plus, include acid sialic, fucoză,

Scanned with OKEN Scanner

xiloză şi manoză. Acidul sialic poate reprezenta pînă la 7% dintre componentele macromoleculei. Din cauza greutăţii moleculare relativ mici, anumiţi autori consideră keratan sulfatul un oligozaharid, iar alţii îl descriu ca o formă intermediară între mucopolizaharide şi glicoproteine.

h. PARTICULARITĂŢILE PROCESULUI DE SINTEZĂ A MUCOPOLIZAHARIDELOR ACIDE

Interesul pentru acest subiect este sugerat de numeroase cercetări care atestă creşterea sintezei mucopolizaharidelor acide în peretele arterial în faza premergătoare apariţiei leziunilor de ateroscleroză experimentală, precum şi în anumite stadii evolutive ale acestor leziuni.

Controlul sintezei mucopolizaharidelor acide din peretele arterial s-ar efectua prin intermediul a două căi principale: I) elaborarea unei fracţii proteice specifice pentru fiecare tip de mucopolizaharid, nucleul proteic servind apoi ca loc de inserţie a lanţurilor polizaharidice; II) elaborarea unor enzime implicate în procesul de sinteză a substanţelor constitutive ale macromoleculei de mucopolizaharid, enzime ce ar fi ele însele sintetizate într-o ordine genetic programată şi s-ar dispune tot într-o ordine genetic programată în citoplasma celului. Susţinătorii acestei ultime ipoteze descriu existenţa unei „linii" de sinteză, alcătuită dintr-o succesiune de enzime situate la nivelul ribozomilor, reticulului endoplasmic şi aparatului Golgi; fiecare dintre aceste enzime ar reprezenta un punct de control genetic al sintezei (DORFMAN 1969).

Dezvoltarea lanţului polizaharidic începe prin formarea zonei de legătură dintre acest lanţ şi nucleul proteic, respectiv printr-un transfer de xiloză la receptorul peptidic, efectuat de o enzimă specifică. Xiloza este cel mai frecvent legată de serina din peptid. Dacă fracţia proteică nu a fost elaborată, formarea lanţului polizaharidic este inhibată printr-un mecanism *feedback*; aceeaşi inhibare apare dacă gruparea hidroxil a serinei este ireversibil blocată în nucleul proteic.

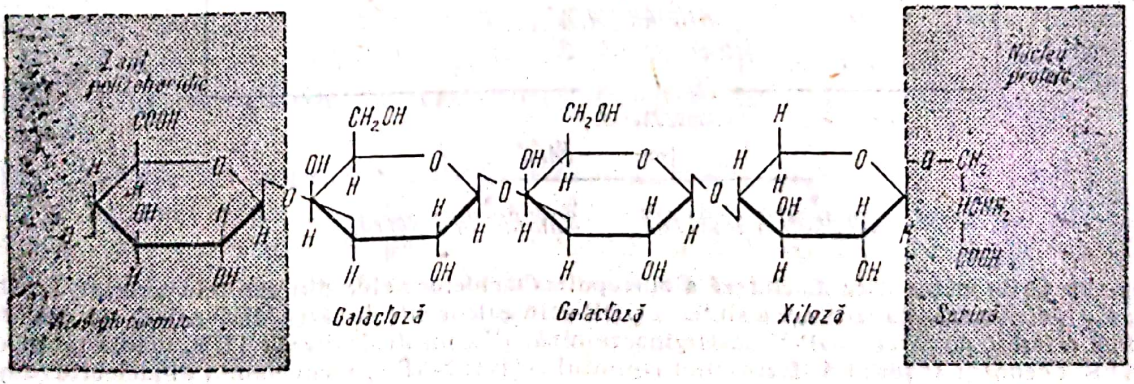


Fig. 27 Structura propusă de LINDHAL (1966) pentru regiunea de legătură dintre nucleul proteic şi lanţul polizaharidic din structura heparinei şi a altor mucopolizaharide acide.

După legarea xilozei urmează transferarea pe acest monozaharid a primei molecule de galactoză şi apoi a celei de a doua molecule de galactoză pe cea dintîi. A doua galactoză face trecerea spre lanţul polizaharidic propriu zis prin legătura ei cu acidul glucuronic din prima unitate dizaharidică repetabilă a lanţului pe cale de polimerizare. Segmentul intermediar de legătură între proteină şi polizaharid, alcătuit din glucide neutre este schematizat în *fig. 27*. Nu

se poate încă preciza cum ia naştree acest lanţ polizaharidic după ce s-a format zona intermediară; el ar putea rezulta din polimerizarea unor oligozaharide (unităţi dizaharidice repetabile), sau din transferul secvenţial de monozaharide izolate la capătul de creştere al lanţului, precum şi din intricarea acestor două mecanisme. Activitatea galactozil transferazelor scade cu înaintarea în vîrstă dar creşte cu apariţia leziunilor de ateroscleroză experimentală, în timp ce xilozil transferaza nu se modifică cu înaintarea în vîrstă dar îşi reduce activitatea în cursul dezvoltării leziunilor de ateroscleroză (BELON 1978).

Folosind marcajul cu radioizotopi s-a constatat că fracţia proteică a macromoleculei de mucopolizaharid este formată în ribozomi, zona intermediară de legătură în reticulul endoplasmic rugos, lanţul polizaharidic în

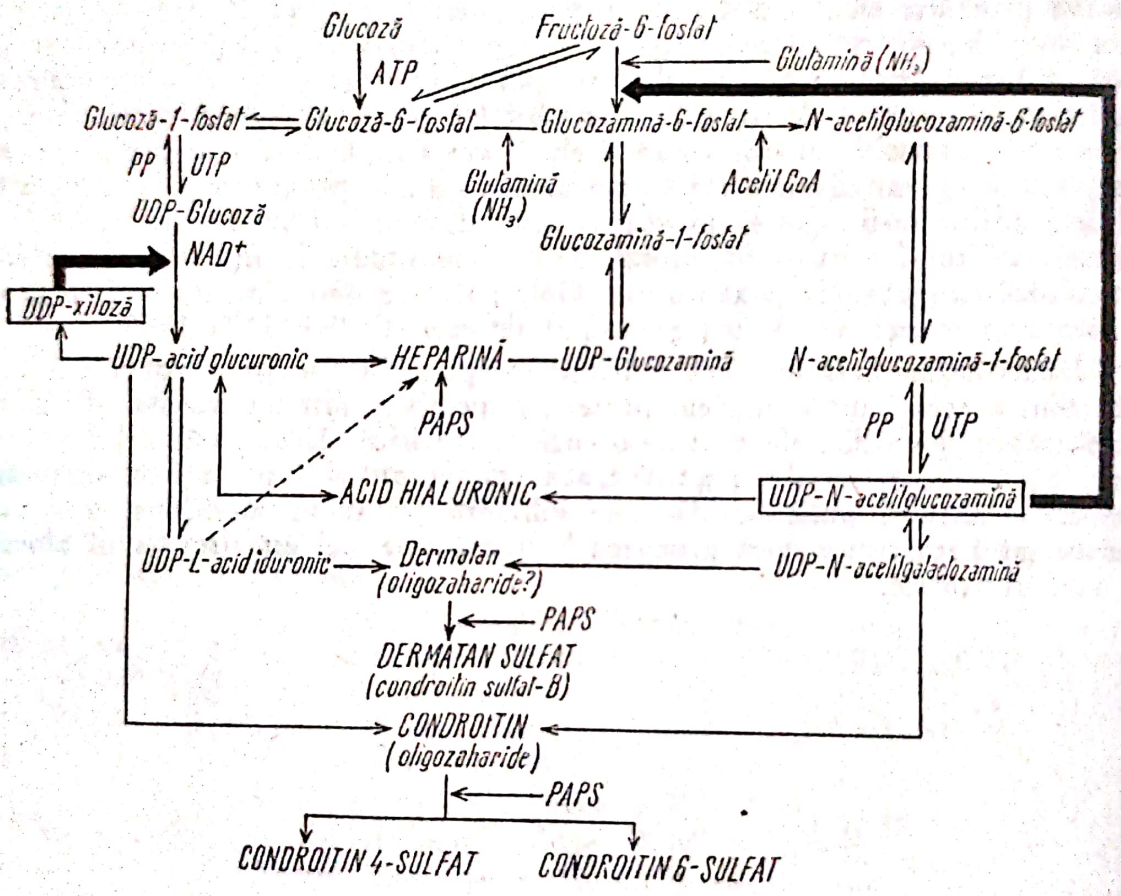


Fig. 28 Căile metabolice de sinteză a mucopolizaharidelor acide din peretele arterial. Liniile groase indică inhibiţia *feedback* a sintezei UDP-acid gulcuronic de către UDP-xiloză şi a glucozaminei 6-fosfat de către UDP-N-acetilglucozamină. PP, pirofosforilază; TUP, uridin trifosfat; PAPS, adenozin 3′-fosfat 5′-fosfosulfat (sulfatul activ); NAD+, nicotinamid dinucleotid (după BERENSON, RADHAKRISHNAMURTHY, DALFERES şi SRINIVASAN 1971, cu permisiunea Editurii Saunders, Washington).

reticulul endoplasmic neted şi în aparatul Golgi, unde are loc probabil şi procesul de sulfatare. Acest proces atît de complex de sinteză se efectuează de-a lungul „liniei" de enzime menţionată. Aparatul Golgi ar reprezenta stadiul final de acumulare, la acest nivel producîndu-se alungirea lanţului polizaharidic pînă la dimensiunile genetic programate. După ce creşterea în lungime a lanţului s-a terminat, iar sulfatarea a atins concentraţia adecvată,

vezicula respectivă, conținînd complexul proteină-polizaharid este eliminată din celulă.

În afara enzimelor implicate în procesele de formare a nucleului proteic, a zonei intermediare de legătură, a lanțului polizaharidic și în sulfatare, o importanță deosebită în sinteza mucopolizaharidelor o au și epimerazele, la evidențierea cărora școala românească de histochimie a avut o contribuție remarcabilă (DICULESCU și ONICESCU 1965, 1966; DICULESCU și col. 1968).

Există diferențe de activitate a enzimelor implicate în sinteza mucopolizaharidelor acide din peretele arterial, legate de: specie, vîrstă, sex, topografia vasului investigat, stratul vascular analizat etc.

În *fig. 28* prezentăm căile metabolice de biosinteză a mucopolizaharidelor acide din peretele arterial. Alte date analitice asupra sintezei mucopolizaharidelor acide și asupra structurii substanțelor ce rezultă din acest proces au fost menționate în lucrări anterioare și nu mai revenim asupra lor (VELICAN C. 1974; VELICAN C. și col. 1963; VELICAN C. și VELICAN 1969, 1970).

i. DEGRADAREA MUCOPOLIZAHARIDELOR ACIDE

Turnover-ul mucopolizaharidelor acide este controlat de factori hormonali, metabolici, de mediatori chimici etc., capabili să stimuleze activitatea glucozidazelor și proteazelor ce degradează componentele protidice și glucidice ale macromoleculei. Această degradare este potențată prin eliberarea de enzime lizozomale sau prin aport masiv de hidrolaze de către plasma ce traversează peretele arterial. Un alt factor de potențare a activității hidrolazelor îl reprezintă vîrsta, mai ales prin modificarea pH-ului substanței fundamentale spre valori optime pentru aceste enzime. S-a evidențiat un pH optim de 4,1 pentru hialuronidaze, 5,0 pentru sulfohidrolaze, 5,2 pentru β-glucuronidaze, 4,5 pentru β-glucozaminidaze, 4,0 pentru catepsine, 4,6 pentru peptidaze acide (BUDDECKE și KRESSE 1968).

Din punct de vedere al patogeniei aterosclerozei sînt de menționat în primul rînd degradările substanței fundamentale produse de hidrolazele lizozomale.

Enzimele cu acțiune similară *hialuronidazelor* bacteriene și testiculare, desfac legături hexozaminidice cu producerea unor mixturi de oligozaharide; acționează pe o scară de pH-uri de la 3,8 la 5,0. Activitatea diminuă cînd mucopolizaharidele sînt foarte bogate în grupe sulfat, mai ales în prezența formei suprasulfatate a condroitin sulfaților. Dimpotrivă activitatea crește cînd sînt mai numeroase mucopolizaharidele nesulfatate de tipul acidului hialuronic și condroitinului. Sub acțiunea hialuronidazelor lizozomale se produce o diminuare considerabilă a rolului de „sită" exercitat de acidul hialuronic și condroitin sulfații din substanța fundamentală, rezultînd pătrunderea masivă a unor macromolecule de tipul lipoproteinelor și fibrinogenului. Această diminuare are deci un caracter net aterogen, demonstrat și prin variate modele experimentale. Prima dintre aceste investigații, efectuată cu peste două decenii în urmă, evidenția, la iepurii supuși la diete bogate în colesterol și injectați cu hialuronidază, apariția mai rapidă a leziunilor în comparație cu lotul supus doar acțiunii dietelor bogate în colesterol (ADLERSBERG și col. 1957). Depolimerizarea mucopolizaharidelor este urmată

Scanned with OKEN Scanner

și de scăderea concentrației ionilor de sodiu din peretele arterial, rezultînd, așa cum s-a mai menționat, o diminuare a reactivității celulelor musculare netede la stimuli nervoși.

Hexozaminidazele și *glucuronidazele* acționează asupra oligozaharidelor rezultate din degradarea efectuată de hialuronidaze. Se cunosc mai bine procesele catabolice efectuate de β-glucuronidaze și β-glucozaminidaze, enzime ce s-ar găsi concentrate nu numai în lizozomi, ci și în jurul reticulului endoplasmic și al aparatului Golgi. Rata de catabolizare a mucopolizaharidelor acide de către aceste enzime ar fi supusă unui control *feedback* negativ: creșterea numărului de lanțuri polizaharidice peste normal potențează activitatea enzimelor, scăderea numărului de lanțuri polizaharidice neoformate o inhibă. Localizărilor menționate ale enzimelor de tipul hexozaminidazelor și glucuronidazelor le corespund și localizările *pool*-urilor de mucopolizaharide. Ar exista un *pool* secretor, alcătuit din lanțuri polizaharidice cu greutate moleculară redusă și cu *turnover* rapid, de numai cîteva ore și un *pool* de depozit, cu timp de înjumătățire variind între 3 zile și 3 luni.

Heparinazele degradează heparina și substanțele înrudite. Acționează atît ca eliminaze cît și ca hidrolaze, depolimerizînd mucopolizaharidele pînă la stadiul de oligozaharide; apoi α-dizaharidazele desfac aceste oligozaha-

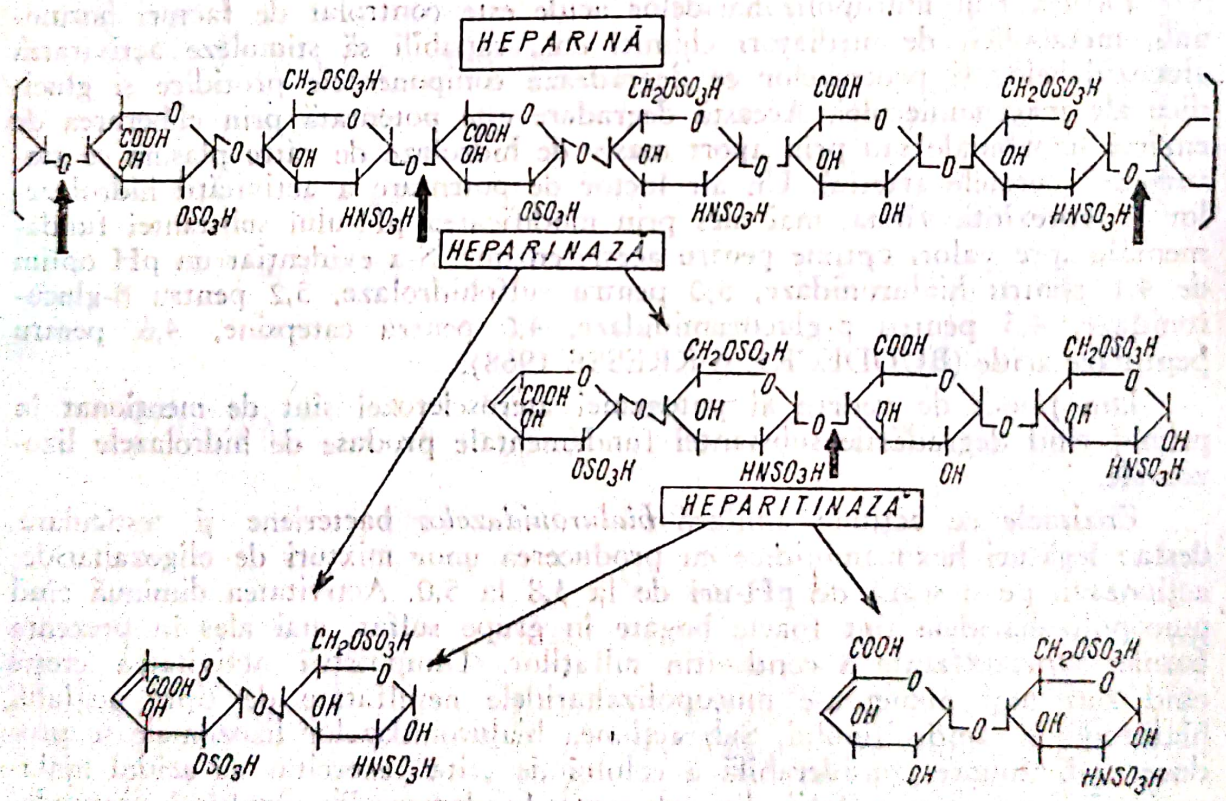


Fig. 29 Degradarea heparinei de către heparinază și heparitinază, rezultînd tetrazaharide și dizaharide tri și disulfatate (după SILVA și DIETRICH 1975).

ride în monozaharidele constitutive. Marea majoritate a autorilor includ în termenul de heparinaze și *heparitinazele*, care degradează în mod specific heparan sulfatul. Un aspect sugerînd modul cum este degradată heparina de către heparinază și heparitinază este prezentat în *fig. 29*.

Scanned with OKEN Scanner

j. ACȚIUNI ENZIMATICE COMPLEXE

Prezența în peretele arterial a hialuronidazelor sau hialuronat glican hidrolazelor (EC 3.2.1.35), condroitin sulfat hidrolazelor și condroitin sulfat sulfohidrolazelor (EC 3.1.6.4), N-acetilglucozaminidazelor (EC 3.2.1.30), β-glucuronidazelor (EC 3.2.1.31), catepsinelor (EC 3.4.4.23), carboxipeptidazelor acide (EC 3.4.2) și a altor enzime cu localizare predominant lizozomală, sugerează posibilitatea unui atac complex asupra macromoleculei de mucopolizaharid acid. Condroitin sulfații, de exemplu, sînt degradați pînă la N-acetilgalactozamină, acid glucuronic, sulf organic, amino acizi, glicopeptidul zonei de legătură cu proteina și lanțuri peptidice simple, toate rezultînd sub acțiunea sinergică sau succesivă a enzimelor menționate. Legătura pe care fiecare dintre aceste enzime o clivează în mod specific este menționată în *fig. 30*. Este probabil ca prima etapă a degradării să ducă la eliberarea

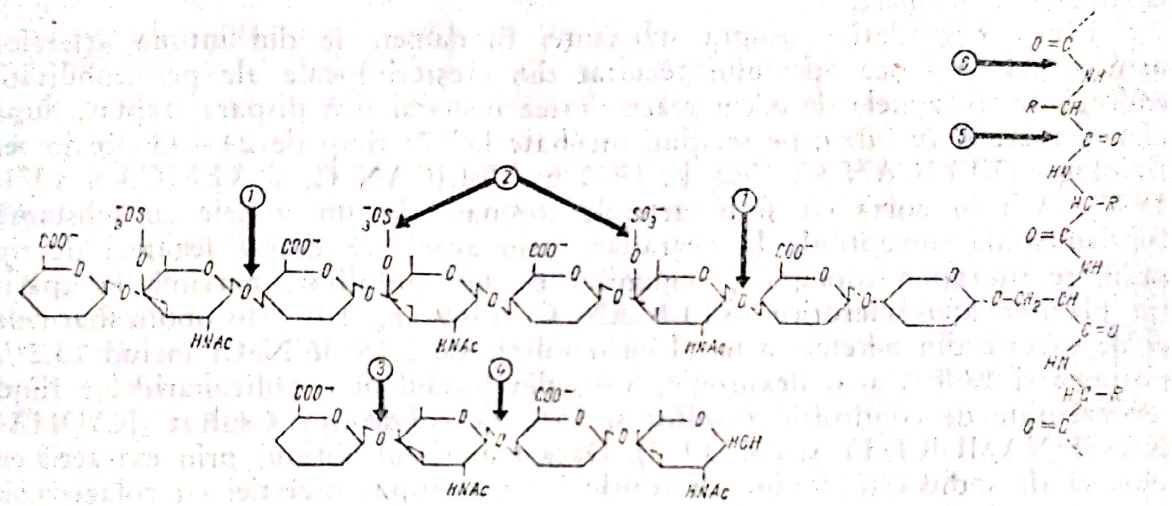


Fig. 30 Degradarea enzimatică a complexului condroitin 4-sulfat proteină. 1 = hialuronatglican hidrolază; 2 = condroitin sulfat hidrolază; 3 = β-glucuronidază; 4 = N-acetil β-hexozaminidază; 5 = catepsină D; 6 = carboxipeptidază acidă (după BUDDECKE și KRESSE 1969).

grupelor sulfat, apoi hialuronidazele transformă lanțurile polizaharidice în unități oligozaharidice, pe care glucozaminidazele, galactozaminidazele și glucuronidazele le desfac în monozaharidele constitutive. Concomitent, fracția proteică este supusă acțiunii catepsinelor, rezultînd oligopeptide ce sînt în continuare degradate de carboxipeptidazele acide pînă la formarea de amino acizi (HELD și col. 1968; BUDDECKE și KRESSE 1969).

Variațiile activităților enzimatice implicate în degradarea mucopolizaharidelor acide din peretele arterial au fost corelate cu numeroși factori, de o importanță deosebită apărînd vîrsta. Se intensifică cu îmbătrînirea activitatea glucuronidazelor, glucozaminidazelor, galactozaminidazelor, catepsinelor, carboxipeptidazelor acide și a altor hidrolaze lizozomale. Această intensificare atinge nivelul maxim dacă apar și leziuni de ateroscleroză, rezultînd procese degradative masive descrise de noi sub denumirea de histoliză intimală și considerate ca stadiu inițial în formarea plăcilor aterosclerotice (VELICAN C. și VELICAN 1976 b, 1978 b).

Scanned with OKEN Scanner

k. ALTE ACȚIUNI DEGRADATIVE

Procesul de reducere a vîscozității lichidului sinovial sub acțiunea razelor ultraviolete sau a altor factori de mediu cunoscut și sub denumirea de reacția ORD poate fi explicat pe baza teoriei oxido-reducerii. Conform acestei teorii, numeroase substanțe pot produce degradări limitate ale mucopolizaharidelor acide prin intermediul radicalilor liberi capabili să desfacă legături intramoleculare și intermoleculare. S-a sugerat că principalii factori ce acționează prin mecanismul de oxido-reducere ar potența formarea peroxidului de hidrogen (PIGMAN și RIZVI 1959; PIGMAN și col. 1961). Această substanță ar fi capabilă să atace legături glucozidice și să producă astfel o depolimerizare limitată a mucopolizaharidelor acide. S-ar explica astfel depolimerizarea apărută sub acțiunea razelor X, razelor ultraviolete, ultrasunetelor etc. și mai ales sub acțiunea acidului ascorbic. Toți acești factori ar diminua rezistența substanței fundamentale din peretele arterial la acțiunea enzimelor lizozomale.

Efecte degradative asupra substanței fundamentale din intima arterelor apar și sub acțiunea edemului rezultat din creșteri locale ale permeabilității endoteliale. În zonele de edem reactivitatea histochimică dispare treptat, după cum dispare și *in vitro*, pe secțiuni incubate la 37° timp de 24—48 ore în ser fiziologic (VELICAN C. 1968 b, 1970 b; VELICAN C. și VELICAN 1971, 1972). Atît în aortă cît și în arterele coronare de om, zonele cu substanță fundamentală susceptibilă la degradare prin agenți ce desfac legături de tip salin, se suprapun topografic regiunilor cu susceptibilitate maximă la apariția plăcilor aterosclerotice (VELICAN C. 1969 a, b). Mucopolizaharidele acide extrase din peretele arterial cu o soluție de 0,15 *M* NaCl includ 13,2% proteine și 18,8% acid hexuronic, 85% din totalul mucopolizaharidelor fiind reprezentate de condroitin 6-sulfat și 15% de condroitin 4-sulfat (RADHAKRISHNAMURTHY și col. 1977). Dacă materialul obținut prin extracția cu clorură de sodiu este eliminat și reziduul rămas supus digestiei cu colagenază, această enzimă mai solubilizează mucopolizaharide acide conținînd 10,3% proteine și 20,6% acid hexuronic, incluzînd 77% condroitin 6-sulfat, 14% condroitin-4-sulfat și 9% dermatan sulfat. În sfîrșit dacă reziduul care rămîne după digestia cu colagenază este supus acțiunii elastazei, se obține și eliminarea heparan sulfatului, care este ferm legat de structurile elastice. Aceste rezultate au doar valoarea unui sondaj, extractibilitatea mucopolizaharidelor acide variind cu vîrsta, patul arterial și segmentul arterei. Mai menționăm că soluția 0,15 *M* de clorură de sodiu extrage numai 10% din cantitatea totală de mucopolizaharide din cartilaj, în timp ce în aortă proporția este de 40% (MUTHIAN 1978). Această predominanță a legăturilor de tip salin în organizarea macromoleculară a substanței fundamentale din peretele arterial, în comparație cu alte organe și țesuturi, o face mai susceptibilă la acțiuni degradative nespecifice și în primul rînd la infiltrația edematoasă a intimei, rezultînd din creșteri locale ale permeabilității endoteliale.

l. INTERACȚIUNI MUCOPOLIZAHARIDE-LIPOPROTEINE

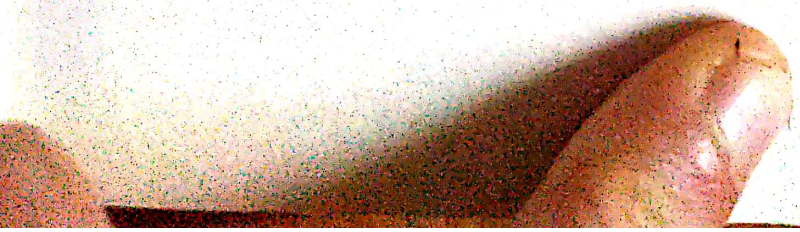
Una dintre problemele de actualitate ale patogeniei aterosclerozei se referă la posibilitatea reținerii elective a β-lipoproteinelor de către mucopolizaharidele acide din substanța fundamentală a intimelor îngroșate ale artere-

Scanned with OKEN Scanner

lor. Cu peste un veac în urmă VIRCHOW (1856) menţiona că lipidele se acumulează în masa de material metacromatic prezentă în intima arterelor. Această interrelaţie topografică a fost din nou reactualizată la începutul acestui secol (BJORLING 1911), dar primele dovezi concludente au fost aduse numai după folosirea radioizotopilor. Administrarea de sulf radioactiv la animale ţinute la diete bogate în colesterol a permis să se demonstreze o creştere a sintezei mucopolizaharidelor acide din peretele arterial ce precedă acumularea lipidică (FORMAN şi col. 1968).

Corelarea observaţiilor microscopice cu studii radiobiologice şi analize chimice a evidenţiat multe neconcordanţe ce nu îşi găsesc încă o explicaţie satisfăcătoare. Cercetările de biochimie au demonstrat creşterea cu vîrsta a cantităţii de mucopolizaharide acide din peretele arterial, mai evidentă pînă în al treilea deceniu şi o scădere a acestei cantităţi odată cu formarea plăcilor aterosclerotice (KUMAR şi col. 1967 a). Dimpotrivă, apariţia striurilor lipidice s-ar asocia cu mărirea locală a concentraţiei mucopolizaharidelor, predominînd, după unele rezultate condroitin sulfaţii şi heparan sulfatul (BOTTCHER şi KLYNSTRA 1965), după altele dermatan sulfatul (KUMAR şi col. 1967 b). Dacă mucopolizaharidele acide din peretele arterial sînt clasificate după susceptibilitatea sau rezistenţa lor la digestia cu hialuronidază testiculară, formarea leziunilor de ateroscleroză ar potenţa sinteza celor rezistente, respectiv a heparan sulfatului şi dermatan sulfatului. Această sinteză crescută ar fi prezentă doar în stadiile incipiente de evoluţie a leziunilor, în timp ce în stadii tardive scade concentraţia tuturor tipurilor de mucopolizaharide. În numeroase lucrări de biochimie nu s-au putut evidenţia nici modificări cantitative, nici modificări calitative ale mucopolizaharidelor din artere odată cu apariţia plăcilor aterosclerotice. Datele contradictorii care există asupra acestui subiect justifică caracterul fragmentar al prezentării noastre.

În cursul acestor studii, ce au dus la rezultate atît de variate, s-a observat că mucopolizaharidele acide sînt frecvent extrase din peretele arterial sub formă de complexe cu lipoproteinele, mai ales cu cele din clasa β (BERNFELD şi col. 1957). Studii ulterioare au evidenţiat că precipitate incluzînd mucopolizaharide acide şi lipoproteine se formează în prezenţa sărurilor de calciu. Deoarece cantitatea de calciu din peretele arterial creşte cu vîrsta, acest efect de cuplare a celor două tipuri de macromolecule devine tot mai eficient cu cît peretele arterial îmbătrîneşte. În anumite modele experimentale s-a mai constatat că formarea complexelor mucopolizaharide acide — lipoproteine este potenţată de stări prelungite de hipoxie (GERO şi col. 1961, 1962). S-a putut izola din aorta de om, un complex macromolecular anionic, incluzînd mai multe tipuri de mucopolizaharide, prezentînd o afinitate particulară pentru β-lipoproteine; complexe similare au putut fi produse şi *in vitro*, punînd mucopolizaharidele extrase din plăci aterosclerotice în contact cu serul hipercolesterolemic de iepure (BIHARI-VARGA 1965; BIHARI-VARGA şi col. 1964). Dacă s-au folosit mucopolizaharide acide din perete arterial considerat normal, formarea complexelor nu s-a mai produs, sugerîndu-se astfel o afinitate specială pentru β-lipoproteine a mucopolizaharidelor din leziunile de ateroscleroză. În plus, s-a putut demonstra existenţa unei corelaţii semnificative între concentraţia lipidelor totale, colesterolului total, colesterolului esterificat, colesterolului liber şi fosfolipidelor, pe de o parte şi



Scanned with OKEN Scanner

cantitatea de complexe formate de mucopolizaharide cu β-lipoproteine, pe de altă parte. Apariţia, *in vitro*, a acestor complexe este mai rapidă şi mai intensă dacă se folosesc mucopolizaharide bogate în grupe sulfat şi dacă mediul conţine cantităţi suficiente de ioni de calciu (WALTON şi SCOTT 1964). *Fig. 31* sugerează formarea punţilor de calciu între grupele sulfat ale heparinei şi radicalii fosfat ai fosfolipidelor din lipoproteine. În afara acestor

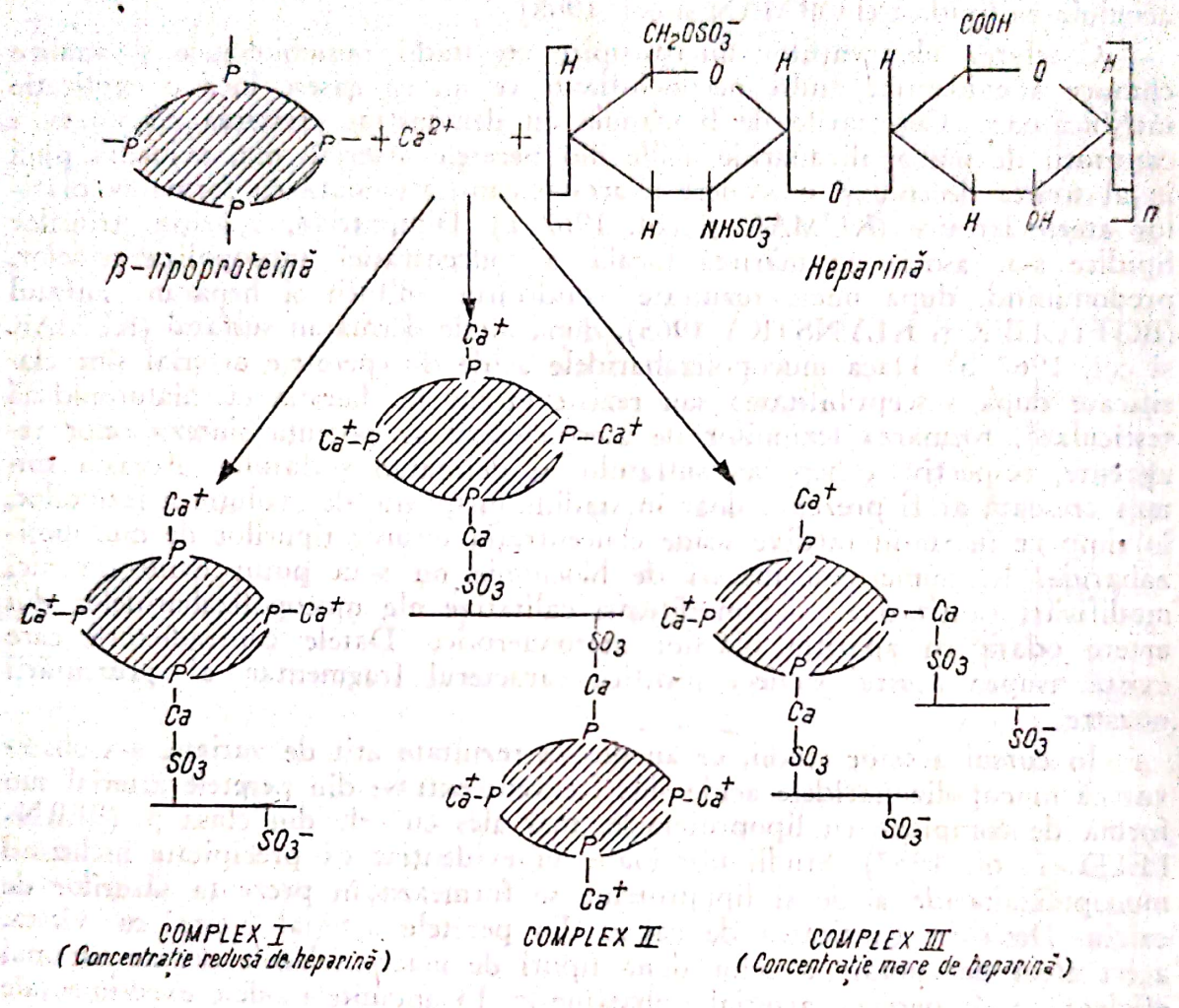


Fig. 31 Prezentare schematizată a formării complexelor dintre β-lipoproteine şi heparină prin intermediul punţilor de calciu. P, radicali fosfat ai fosfolipidelor din lipoproteine (după SRINIVASAN, LOPEZ, RADHAKRISHNAMURTHY şi BERENSON 1970, cu permisiunea Editurii Associated Scientific Publishers — Elsevier, Amsterdam).

punţi, ar mai lua naştere şi legături directe, întrucît apoproteina din lipoproteine poartă sarcini electrice pozitive, care pot forma conexiuni de tip salin cu grupele carboxil sau sulfat ale mucopolizaharidelor. Acest mecanism electrostatic a fost evidenţiat în numeroase investigaţii privind formarea complexelor dintre mucopolizaharide şi lipoproteine. Nu s-au putut obţine complexe *in vitro* cu heparină sau dermatan sulfat desulfatate, ceea ce ar sugera rolul dominant al grupelor sulfat în legarea lipoproteinelor. În schimb s-au format complexe tot atît de stabile ca şi sub acţiunea ionilor de calciu dacă aceşti ioni au fost înlocuiţi cu cei de magneziu, mangan, zinc, cupru,

Scanned with OKEN Scanner

cobalt sau fier (SRINIVASAN şi col. 1975 a). Posibilitatea disocierii complexelor mucopolizaharid-lipoproteină cu soluţii de clorură de sodiu avînd densitatea 1065 demonstrează că legăturile ionice rămîn dominante o lungă perioadă de timp după formarea acestor complexe. O moleculă de β-lipoproteină cu greutate moleculară de $2{,}4 \times 10^6$ posedă aproximativ 1 200 grupări amino încărcate cu sarcini electrice pozitive şi aproximativ 1 160 grupări fosfat încărcate cu sarcini electrice negative, cifrele raportîndu-se la pH-ul de 7,4. Macromolecula de condroitin sulfat include, în lanţurile polizaharidice, aproximativ 2 000 sarcini electrice negative, apte să reacţioneze cu grupările amino şi să formeze punţi de calciu cu grupările fosfat ale lipoproteinelor. Teoretic există deci posibilităţi multiple ca într-o primă etapă să se formeze complexe solubile prin legături de tip salin între grupele amino şi sulfat, iar ulterior cationii divalenţi de tipul calciului să dea naştere unor noi tipuri de legături care să insolubilizeze complexul. Legăturile ce iau naştere sub acţiunea Ca^{2+} nu se mai rup în soluţii saline, dar sînt desfăcute sub acţiunea fosfolipazei (SRINIVASAN şi col. 1975 b).

Nu s-au evidenţiat diferenţe între proporţiile molare ale mucopolizaharidelor şi lipoproteinelor în complexele extrase din striuri lipidice şi plăci aterosclerotice, dar s-au notat diferenţe semnificative privind mucopolizaharidul care complexează. În striurile lipidice acesta este în mod predominant reprezentat de condroitin sulfaţi, iar în plăci de heparan sulfat.

La microscopul electronic, complexele mucopolizaharid-lipoproteine apar ca particule cu diametre variind între 160 şi 3 000 Å; sînt transparente la fasciculul de electroni, sferice, cu benzi de interconectare. Particulele din soluţiile pure de β-lipoproteine au diametre între 150—200 Å, iar adăugarea de heparină măreşte aceste diametre la 1 000—2 000 Å. Dacă se adaugă şi calciu, creşterea diametrelor este şi mai marcată (WOODARD şi col. 1976). Extracţiile cu soluţii saline disociază complexele cu diametrele cele mai mici, ce abia depăşesc 3 000 Å; gradul cel mai ridicat de insolubilizare este prezentat de complexele gigante care ajung pînă la 15 000 Å.

Relaţiile dintre complexele mucopolizaharid — lipoproteină şi ateroscleroză sînt neclare. S-a sugerat că prezenţa acestor complexe ar stimula fagocitoza, în urma căreia complexele pătrund în citoplasma celulelor musculare netede. Acumulate în mare cantitate induc formarea de elemente cu protoplasmă spumoasă şi în final, necroza celulelor. Eliberate în spaţiile extracelulare, complexele ar fi din nou fagocitate de un val de celule musculare netede migrate din medie sau neoformate local, ar trece din nou prin stadiul de elemente spumoase şi celule necrozate cu eliberarea extracelulară a complexelor, ar fi din nou fagocitate şi ciclul s-ar repeta, autoîntreţinînd progresiunea leziunii şi mai ales extinderea ei în suprafaţă şi formarea în interior a unui centru necrotic. Analize histochimice foarte documentate contestă însă că la om lipidele s-ar acumula în regiunile intimale bogate în mucopolizaharide acide (ZUGIBE 1963), iar date experimentale demonstrează că mucopolizaharidele şi în special heparan sulfatul au acţiuni antiaterogene (GARDAIS şi col. 1973). Am menţionat, în paginile anterioare, lucrări în care s-a încercat prevenirea şi tratarea aterosclerozei prin administrarea de condroitin sulfaţi, heparan sulfat şi heparină. Formarea complexelor dintre mucopolizaharide acide şi β-lipoproteine ca mecanism principal al reţinerii în peretele arterial a macromoleculelor cu acţiune aterogenă rămîne un subiect contro-

Scanned with OKEN Scanner

versat. Dealtfel chiar colectivele care au lucrat intens în cursul ultimului deceniu asupra acestui subiect, folosind cele mai perfecţionate tehnici, îşi formulează cu foarte multă rezervă concluziile (ŞRINIVASAN şi col. 1977; BERENSON şi col. 1978).

2. GLICOPROTEINELE

Prezenţa lor a fost evidenţiată atît în substanţa fundamentală a arterelor, cît şi în membranele bazale ale celulelor musculare netede, în reţelele reticulinice, fibrele de colagen şi structurile de tip elastic.

Dacă se face o „disecţie chimică" a peretelui arterial (MOCZAR şi col. 1970), începîndu-se cu o extracţie exhaustivă cu clorură de calciu 10% sînt eliminate mucopolizaharidele acide şi colagenul neutro-solubil. O a doua extracţie, cu acid tricloracetic 2,7% elimină noi cantităţi de mucopolizaharide şi de colagen, lăsînd în peretele arterial glicoproteinele şi elastina. Glicoproteinele pot fi extrase în mod electiv într-o soluţie de uree 8 *M*, iar reziduul este aproape în exclusivitate alcătuit din macromolecule de elastină. Această „disecţie chimică" demonstrează că glicoproteinele sînt mult mai ferm interconectate în peretele arterial decît mucopolizaharidele şi chiar decît macromoleculele de colagen. În consecinţă li s-a atribuit denumirea de „glicoproteine de structură" (ROBERT L. şi ROBERT 1969) spre a fi diferenţiate de glicoproteinele din plasmă.

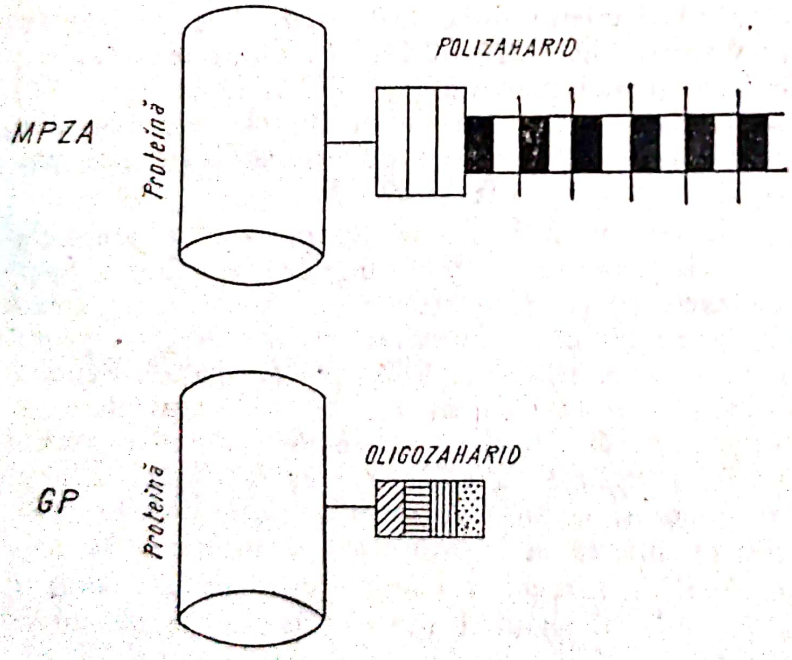


Fig. 32 Deosebiri structurale între mucopolizaharide acide şi glicoproteine: mucopolizaharidele acide (MPZA) au legate de nucleul proteic polizaharide, cu lanţul alcătuit din repetarea aceleiaşi unităţi dizaharidice; glicoproteinele (GP) au legate de nucleul proteic oligozaharide, alcătuite dintr-un lanţ conţinînd unităţi monozaharidice independente.

În *fig. 32* prezentăm principalele deosebiri privind organizarea macromoleculară a unui mucopolizaharid acid (A) şi a unei glicoproteine (B). Mucopolizaharidul are lanţul glucidic alcătuit din unităţi repetabile, cel mai frecvent dizaharidice, în timp ce glicoproteina are lanţul glucidic format din monozaharide nerepetabile. Constituţia lanţului însuşi este diferită, ca şi proprietăţile biologice ale celor două tipuri de macromolecule. De aceea folo-

Scanned with OKEN Scanner

sirea termenului de glicoproteină spre a desemna un mucopolizaharid şi invers, trebuie evitată. Histochimic, ambele tipuri de macromolecule pot apărea bazofile sau/şi metacromatice datorită prezenţei grupelor sulfat şi carboxil în mucopolizaharide şi a grupelor carboxil ale acidului sialic în glicoproteine. Pe de altă parte însă reacţia PAS este negativă la mucopolizaharide şi constant pozitivă la glicoproteine, întrucît numai acestea din urmă au două grupări glicol vicinale libere. De asemenea, reacţia argentică este negativă la mucopolizaharide şi pozitivă la glicoproteine (VELICAN C. şi VELICAN 1972).

a. FUNCŢIILE GLICOPROTEINELOR DIN ARTERE

Aşa cum am mai menţionat, termenul de glicoproteină trebuie să fie folosit pentru a desemna complexe proteină — oligozaharid, fără unităţi repetabile în lanţul glucidic şi fără tendinţă la polimerizarea acestor unităţi.

Glicoproteinele sînt macromolecule cu greutate moleculară redusă, între 5 000 şi 15 000, contrastînd cu cea a mucopolizaharidelor acide, care poate ajunge la mai multe milioane. Principala caracteristică structurală a glicoproteinelor o reprezintă heterogeneitatea lanţului oligozaharidic, incluzînd reziduuri hexozice, hexozaminice, precum şi o regiune terminală particulară ce conţine fucoză şi derivaţi ai acidului neuraminic (sialic). Substanţele din zona terminală a lanţului oligozaharidic au o stabilitate structurală redusă, fiind uşor detaşabile la schimbări de pH, concentraţie ionică, patern enzimatic etc. S-a atribuit reziduurilor locale, alcătuite din fucoză şi acid sialic, o secvenţă digitală similară celor ce stau la baza operaţiilor informaţionale din anumite tipuri de computeri (DISCHE 1968). În lumina acestei ipoteze, glicoproteinele din peretele arterial ar putea fi considerate o clasă de biopoli meri avînd capacitatea de a acţiona ca macromolecule informaţionale de ordin secundar. Întrucît compoziţia chimică a zonei terminale a lanţului oligozaharidic se poate modifica rapid ca răspuns la schimbările mediului ambiant, glicoproteinele prezintă modificări frecvente ale paternului fizico-chimic, biochimic şi electro-chimic, influenţînd organizarea macromoleculară a substanţei fundamentale şi a fibrelor. S-a sugerat că modalitatea de răspuns a peretelui arterial la agresiuni, la stresuri hemodinamice modificate şi chiar capacitatea de remodelare legată de înaintarea în vîrstă ar fi influenţate de activitatea informaţională a macromoleculelor de glicoproteine (ROBERT L. şi ROBERT 1970).

Un alt aspect particular al funcţiilor glicoproteinelor îl constituie capacitatea lor antigenică. Dintre toate componentele peretelui arterial, glicoproteinele par a fi implicate cel mai des şi mai complex în reacţii antigen-anticorp. S-au descris „familii" de glicoproteine în intimele îngroşate, fiecare cu proprietăţi antigenice particulare. Există, se pare, variaţii genetice în elaborarea acestor glicoproteine de către celulele musculare netede, care permit „tipizarea" acestor macromolecule în funcţie de artera din care au fost extrase. S-au notat şi variaţii genetic determinate, ce au fost corelate cu vîrsta, sexul, grupa sanguină etc.; s-au izolat glicoproteine identice din artere de gemeni homozigoţi şi cu structuri chimice diferite la heterozigoţi (SRINIVASAN şi col. 1971).

Scanned with OKEN Scanner

Fracția proteică a glicoproteinelor este sintetizată în ribozomii celulelor musculare netede din peretele arterial, iar cea glucidică se cuplează de proteină în aparatul Golgi. Evidențierea unor enzime de tipul glicoproteină-glicozil-transferază, sugerează prezența unor factori specifici care catalizează formarea legăturilor dintre amino acizi și monozaharide pe de o parte și între unitățile monozaharidice, pe de altă parte. În concordanță cu conceptul „o enzimă, o legătură", particularitatea dispoziției monozaharidelor în lanțul glucidic ar reflecta specificitatea transferazelor pentru acceptorul protidic sau glucidic. Atașarea primului monozaharid atrage legarea celui de al doilea, tipul structural al acestuia fiind influențat de al celui dintîi. Ar acționa, într-o primă etapă, o polipeptidil-N-acetil glucozaminil transferază, în prezența ei fiind atașată prima unitate glucidică la reziduurile de treonină sau/și serină ale receptorului polipeptidic. Legătura s-ar forma prin conectarea grupului reducător al monozaharidului la grupul hidroxil al serinei sau/și treoninei. După ce această atașare s-a produs, polipeptidul este transformat într-un glicopeptid. Legătura covalentă care ia naștere permite acestui receptor să devină mai rezistent la enzimele proteolitice din mediul ambiant. Se dezvoltă apoi și legături adiționale de tip ester între grupările reducătoare ale monozaharidelor și grupările β-carboxilice ale acidului aspartic. *In vitro*, atît legăturile glucozidice la serină sau/și treonină, cît și cele ester la acidul aspartic sînt susceptibile la hidroliză alcalină. S-au mai detectat și legături formate între reziduurile hexozaminidice și asparaginice. Existența unor interconectări atît de variate pledează pentru microheterogenecitatea structurală a glicoproteinelor din peretele arterial.

Un interes aparte a fost acordat sintezei acidului sialic. Observația că aldolaza din *Clostridium perfringens* clivează acidul sialic în piruvat și N-acetil manozamină și că reacția este reversibilă, a sugerat implicarea acestei enzime în sinteza acidului sialic. Investigații recente au subliniat rolul particular al precursorilor fosforilați, procesul de sinteză incluzînd trei etape principale: I) conversiunea N-acetilmanozaminei în derivatul său fosforilat, reacția fiind catalizată de o kinază care acționează în prezența ATP-ului și a ionilor de magneziu; II) cuplarea N-acetilmanozaminei 6-fosfat cu fosfoenolpiruvatul, reacție catalizată de o enzimă de condensare rezultînd derivatul fosforilat al acidului sialic; III) defosforilarea, urmată de apariția acidului N-acetil neuraminic (sialic). Această apariție mărește brusc hidrofilia macromoleculei de glicoproteină.

În ceea ce privește sinteza fucozei, se produce o reducere la carbonul 2—3 și 5 al moleculei inductoare, glucoza. Conversiunea la C_2 este realizată în stadiul de hexozofosfat; rezultă manoză 6-fosfat, încorporată ulterior în derivatul nucleotidic guanozin-difosfomanoză. Conversiunea acestuia în guanozindifosfofucoză necesită un proces intermediar în care apare 4-ceto 6-dezoximanoza ca urmare a unei oxido-reduceri intramoleculare. În *fig. 33* este schematizat ansamblul reacțiilor implicate în sinteza glicoproteinelor; date mai amănunțite au fost prezentate în alte publicații (VELICAN C. 1974; VELICAN C. și VELICAN 1969, 1970).

Glicoproteinele de structură obținute prin „disecția chimică" a peretelui arterial conțin 1% hexoze, cu raport fucoză/acid sialic 2/1 (ROBERT L. și

Scanned with OKEN Scanner

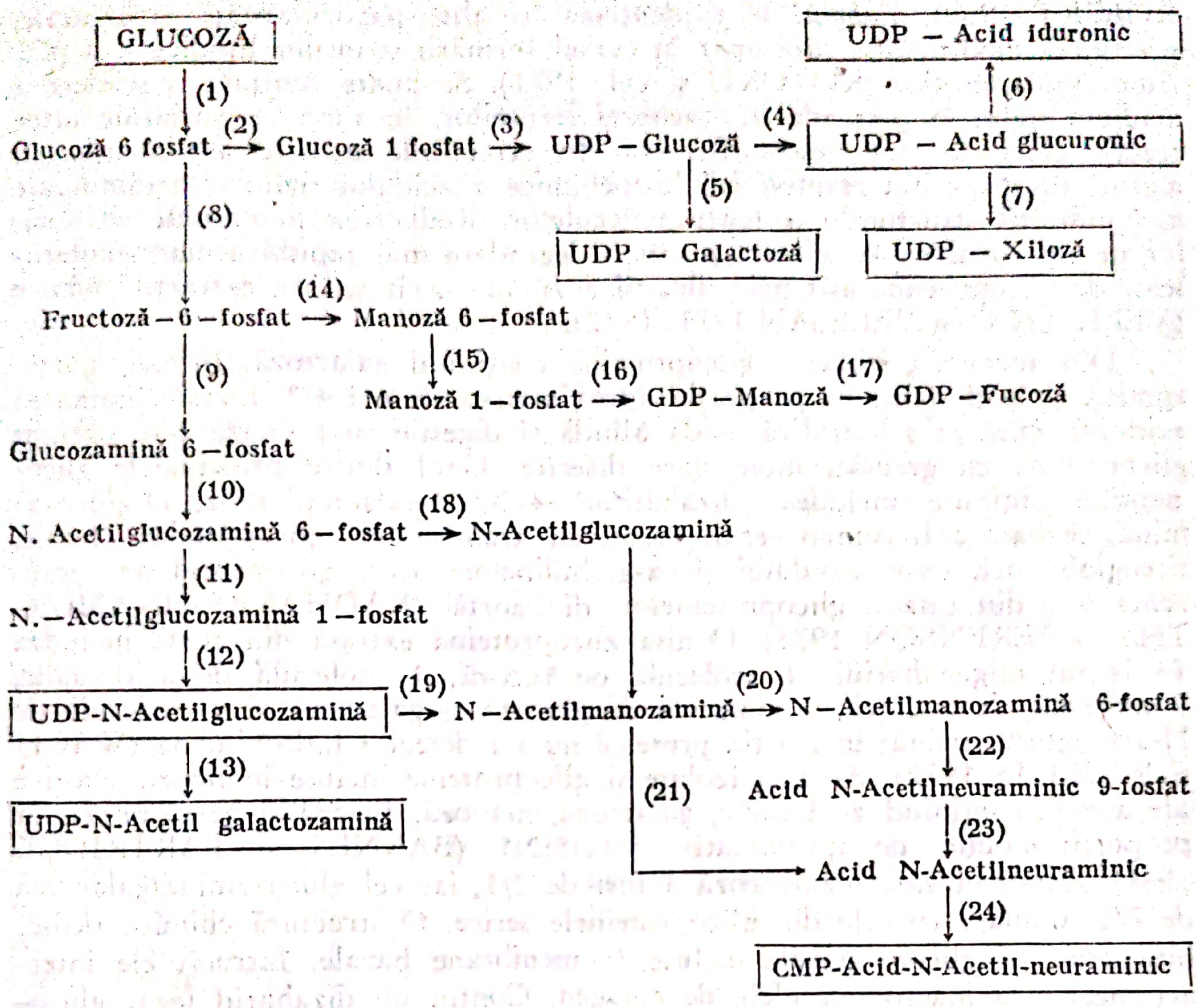


Fig. 33 Principalele etape implicate în sinteza glicoproteinelor (după RODEN 1970, cu permisiunea Editurii Academic Press, New York).

TABELUL V

Compoziția chimică a glicoproteinelor izolate din intima „normală" a aortei, din striuri lipidice și din plăci ateroscleroticе cu aspect de aterom ulcerat. Sînt prezentate procente ale greutății medii / greutatea totală a glicoproteinelor; în paranteze raporturile molare glucide / hexozamine (după KOTOKU, WATANABE, OYAMA, TOKITA, OHBA și NAKAMURA 1971, cu permisiunea Editurii Asociated Scientific Publishers-Elsevier, Amsterdam)

Aspect macroscopic	Intimă aparent normală	Striu lipidic	Placă cu aspect de aterom ulcerat	
Vîrsta loturilor	52 – 73 ani (N = 6)	52 – 61 ani (N = 3)	60 – 73 ani (N = 5)	
Hexozamine (%)	8.6 ± 0.76 (1.00)	8.0 ± 0.52 (1.00)	7.4 ± 0.50 (1.00)	nesemnificativ
Hexoze (%)	5.1 ± 0.57 (0.61 ± 0.06)	4.9 ± 0.37 (0.62 ± 0.04)	4.5 ± 0.41 (0.61 ± 0.04)	nesemnificativ
Acid sialic (%)	2.9 ± 0.76 (0.26 ± 0.10)	2.4 ± 1.27 (0.17 ± 0.09)	1.5 ± 0.67 (0.14 ± 0.05)	P < 0.05
Fucoză	0.42 ± 0.06 (0.059 ± 0.00)	0.37 ± 0.05 (0.057 ± 0.00)	0.38 ± 0.00 (0.063 ± 0.00)	nesemnificativ
Peptide (%)	39.6 ± 2.7	44.1 ± 2.4	60.1 ± 1.5	

ROBERT 1969). *Tabelul V* evidenţiază şi alte particularităţi structurale, precum şi modificările care apar în cursul formării striurilor lipidice şi a plăcilor aterosclerotice (KOTOKU şi col. 1971). Se poate constata o scădere a acidului sialic în perioada histogenezei leziunilor, în timp ce variaţiile altor fracţii glucidice sînt nesemnificative. În cercetările noastre am menţionat, alături de dispariţia reactivităţii histochimice a acidului sialic şi o diminuare a stabilităţii structurale a macromoleculelor. Reducerea numărului legăturilor de tip covalent se reflectă printr-o degradare mai rapidă a macromoleculelor de glicoproteine atît prin digestii enzimatice, cît şi prin extracţii chimice (VELICAN C. şi VELICAN 1971, 1972).

Din aortă s-a izolat o glicoproteină conţinînd galactoză, fucoză, glucozamină şi acid sialic, în proporţie aproximativă de 6:1:4:2. După eliminarea acidului sialic prin hidroliză acidă blîndă şi digestie cu pronază s-au obţinut glicopeptide cu greutăţi moleculare diferite. Unul dintre principalele glicopeptide obţinute includea dizaharidul 4-0-β-D-galactopiranozil-D-glucozamină, ce pare a fi comun ceruloplasminei, transferinei, glicoproteinei fetale, tireoglobulinei, ovomucoidului şi α-globulinelor; acest glicopeptid ar reprezenta 6% din totalul glicoproteinelor din aortă (RADHAKRISHNAMURTHY şi BERENSON 1973). O altă glicoproteină extrasă din aortă includea în lanţul oligozaharidic 1 moleculă de fucoză, 1 moleculă de acid sialic, 2 molecule de manoză, 3 molecule de glucoză şi galactoză şi 4 molecule de N-acetilglucozamină; în fracţia proteică nu s-a detectat hidroxilizină (WAGH şi ROBERTS 1972). Au fost izolate şi glicoproteine incluse în lamele elastice ale aortei, conţinînd acid sialic, galactoză, manoză, fucoză şi hexozamină, în proporţii molare de aproximativ 5:10:5:2:1 (BARNES şi PARTRIDGE 1968). Raportul galactoză/fucoză a fost de 2/1, iar cel glucozamină/galactoză de 7/1, similare cu cele din glicoproteinele serice. O structură chimică deosebită prezintă glicoproteinele incluse în membrane bazale, întrucît ele interacţionează cu macromoleculele de colagen. Conţin un dizaharid legat glucozidic de hidroxilizina colagenului, avînd secvenţa glicozil-galactozil-hidroxilizină (SPIRO 1969).

Aspectul cel mai des întîlnit în cursul catabolizării glicoproteinelor este eliminarea acidului sialic. Anumite enzime lizozomale exercită acţiuni similare sialidazelor bacteriene, clivînd legătura glicozidică între acidul sialic şi reziduul glucidic adiacent, respectiv legătura α 2—6 a acidului sialic la N-acetilglucozamină sau legătura α 2—3 la galactoză sau în sfîrşit legătura α 2—6 la glucoză. Cel mai frecvent, acidul sialic este legat cetozidic la glucozamină, conexiunea avînd o configuraţie α. Dacă apar substituenţi O-acetil se produce brusc o creştere a rezistenţei acidului sialic la hidroliza enzimatică specifică. După eliminarea acidului sialic, glucidul care din poziţie subterminală devine terminal (glucozamina sau galactoza) este mai accesibil hidrolizei enzimatice specifice datorită dispariţiei protecţiei sterice exercitate de grupările carboxil ale acidului sialic. Legăturile cu nucleul proteic sînt desfăcute de „glicopeptidaze"; în investigaţiile noastre histochimice am obţinut însă frecvent ruperea acestor legături după digestia cu pronază (VELICAN C. 1974). Pepsina şi tripsina sînt de asemenea capabile să degradeze fracţia proteică şi implicit întregul edificiu macromolecular. Acestor acţiuni li se opune, aşa cum am mai menţionat, protecţia sterică exercitată de acidul sialic.

Scanned with OKEN Scanner

E. TESUTUL ELASTIC (ELASTINA)

1. DATE INTRODUCTIVE

Cu un sfert de veac în urmă a fost emisă o teorie asupra aterogenezei, conform căreia alterările ţesutului elastic din artere reprezintă prima etapă a dezvoltării leziunilor. Aceste alterări ar condiţiona depunerile de lipide (LANSING 1961). Teoria a fost susţinută de numeroşi cercetători, în anumite clasificări alterările lamelor elastice fiind prezentate ca stadiul iniţial al procesului de aterogeneză (FRIEDMAN şi ROSENMAN 1968).

Examinînd microscopic arterele coronare de făt, nou-născut şi copil, aspectul cel mai impresionant îl constituie severitatea alterărilor limitantei elastice interne. În anumite zone această limitantă dispare complet, teritoriile cu alterările cele mai avansate ale ţesutului elastic suprapunîndu-se celor care prezintă la adult susceptibilitatea cea mai mare la ateroscleroză (VELICAN D. şi VELICAN 1974; VELICAN D. şi col. 1977).

Interesul pentru rolul alterărilor ţesutului elastic în aterogeneză a crescut considerabil odată cu evidenţierea histochimică a prezenţei primelor acumulări lipidice în jurul limitantei elastice alterate. S-a susţinut că aceste lipide ar proveni din macromolecula de elastină ca urmare a unui proces de „degenerescenţă lipidică" (ADAMS 1959) sau de „metamorfoză grasă" (ZUGIBE şi BROWN 1960). Rupturile, dedublările şi degradările fibrelor elastice s-ar asocia cu eliminarea componentelor lipidice la suprafaţa structurilor elastice, primele mici depozite fiind constituite mai ales din sfingomielină (MARTINAZZI şi col. 1968 a, b). În aceste depozite bogate în fosfolipide s-ar acumula progresiv colesterolul adus de lipoproteinele din plasmă. Cînd aceste depozite lipidice nu depăşesc diametrul de 1—3 mm, prevalenţa fosfolipidelor este netă; cînd diametrul ajunge la 5 mm, metodele histochimice pun în evidenţă şi prezenţa colesterolului iar acumularea tinde să ia aspect de aterom.

Capacitatea peretelui arterial de a reţine, pe măsura înaintării în vîrstă, cantităţi tot mai mari de colesterol nu creşte paralel cu cantitatea de ţesut elastic. Rezultate neconvingătoare au apărut şi în lucrările care au încercat să evidenţieze cantităţi mai mari de ţesut elastic în arterele populaţiilor din Statele Unite şi vestul Europei, intens susceptibile la ateroscleroză, în comparaţie cu cele din Asia şi Africa, cu o incidenţă redusă a bolii. Indiferent dacă aparţin grupelor intens susceptibile sau puţin susceptibile la ateroscleroză, subiecţii examinaţi au prezentat cantităţi similare de ţesut elastic la vîrste similare. Cele mai multe dintre lucrări menţionează o scădere progresivă a cantităţii de ţesut elastic din aortă la bătrîn în comparaţie cu adultul, menţionîndu-se, de exemplu: 37,4% ţesut elastic în aortă între 15—29 ani şi 26,8% după 50 de ani (MYERS şi LANG 1946); 48% la 15 ani şi 44% după 45 de ani (LANSING şi col. 1950); 34,5% în primele două decenii ale vieţii şi numai 22,1% la 80 de ani (FARBER şi MOLLER-HOU 1952); 36% între 11—20 ani, 24,8% între 31—40 ani, 22% între 61—70 ani (HOSODA şi MINOSHIMA 1965). Procentele menţionate se referă la greutatea uscată a aortei.

Polimerul denumit *elastină* este alcătuit din lanţuri polipeptidice lungi, libere, mobile, alunecînd uşor unul peste altul, dispuse în mod neorganizat. Cînd acţionează asupra lor o forţă de distensie, se orientează paralel unul cu altul

Scanned with OKEN Scanner

în direcţia forţei respective. Orientarea rapidă şi mobilitatea lanţurilor se datoreşte numărului redus de legături intermoleculare, situate la distanţe relativ mari, atît cît este necesar spre a permite alunecarea unui lanţ polipeptidic peste lanţul vecin.

Capacitatea ţesutului elastic din artere de a fi în acelaşi timp extensibil şi elastic, asigură menţinerea presiunii diastolice a sîngelui circulant, datorită în special reculului din crosă şi segmentul toracic al aortei. Acest vas are o extensibilitate mai mare decît oricare altă arteră, datorită unui conţinut în lame elastice ce reprezintă 30—40% din substanţa uscată a peretelui. Lamele se pot întinde de 1,2—2,0 ori faţă de lungimea iniţială cînd sînt solicitate de stresurile hemodinamice. Spre deosebire de cauciuc, gradul lor de elongaţie nu este corelat cu intensitatea stresului, distensii mici putînd provoca elongaţii maxime. De aceea există pericolul ruperii acestor lame, dacă distensiile bruşte nu sînt amortizate de fibrele de colagen dispuse „în şurub" în jurul celor elastice. Stresul hemodinamic poate solicita capacitatea de distensie a ţesutului elastic atît cît îi permit fibrele inextensibile de colagen.

În încheierea acestor date cu caracter introductiv, reamintim că *turnover*-ul elastinei este practic inexistent, mai ales pentru macromoleculele integrate în zonele centrale ale lamelor, limitantelor şi fibrelor mai groase. Alterările au deci un caracter ireversibil, celula musculară netedă încercînd să repare defectul produs prin sinteze mari locale de mucopolizaharide acide şi colagen. Rezultă o remodelare şi reparare inadecvată a peretelui arterial, cu pierderea distensibilităţii şi elasticităţii, ducînd la mărirea vitezei curentului sanguin prin zona respectivă, cu intensificarea stresului de dragare şi cu pericolul apariţiei eroziunilor endoteliale.

2. STRUCTURĂ ŞI SINTEZĂ

a. COMPOZIŢIA CHIMICĂ A ELASTINEI

Primele cercetări în acest domeniu, efectuate cu aproximativ trei decenii în urmă au evidenţiat o mare cantitate de amino acizi apolari, glicina, alanina şi valina alcătuind împreună aproximativ 95% din totalul amino acizilor. S-a subliniat cantitatea redusă, sau chiar absenţa acizilor aminaţi bazici şi hidroxilici, contrastînd cu valorile ridicate ale leucinei, izoleucinei şi fenilalaninei. Conţinutul atît de mare în amino acizi apolari, unic printre proteinele cunoscute a fost corelat cu proprietăţile mecanice; abundenţa lor ar împiedica formarea de structuri ordonate, rigide. Pe de altă parte, această abundenţă permite o trecere rapidă de la aspectul conformaţional de lanţuri polipeptidice ondulate, la cele complet întinse şi invers, întrucît există puţine legături apte a limita aceste variaţii. Preponderenţa interacţiunilor hidrofobe în masa ţesutului elastic constituie un obstacol în calea pătrunderii moleculelor de apă în scheletul fibrilelor şi al fibrelor, inclusiv a enzimelor ce îşi desfăşoară activitatea în prezenţa apei. Ţesutul elastic uscat devine inextensibil şi se rupe la cea mai mică solicitare, sugerînd importanţa prezenţei moleculelor de apă pentru o funcţionare adecvată. Aceasta constituie, dealtfel, deosebirea esenţială între ţesutul elastic din artere şi cauciucul natural sau sintetic care rămîne elastic în stare de completă deshidratare. S-a sugerat că în structurile elastice ar exista canalicule cu diametre de 30—33 Å prin care apa ar putea

Scanned with OKEN Scanner

pătrunde între lanţurile polipeptidice, formînd o atmosferă perifibrilară adecvată alunecării acestor lanţuri (PARTRIDGE 1967). Aceste canalicule ar fi pline cu acid hialuronic, intens hidrofil, care ar asigura cantitatea de apă solicitată de ţesutul elastic. Scăderea, cu înaintarea în vîrstă, a cantităţii de acid hialuronic din peretele arterial ar constitui o cauză a alterărilor progresive ale structurilor elastice la adulţi şi la bătrîni.

Evidenţierea, în macromolecula de elastină, a doi amino acizi „polifuncţionali", *desmozina* şi *izodesmozina*, reprezintă un important rezultat al cercetărilor de chimie efectuate în acest domeniu (THOMAS şi col. 1963). S-a mai demonstrat că desmozina şi izodesmozina sînt produşii condensării lanţurilor laterale a patru reziduuri de lizină sub forma de compuşi piridinici tetrasubtituiţi (MILLER şi col. 1964). Izolarea desmozinei şi izodesmozinei şi demonstrarea faptului că lizina este implicată în sinteza inelului piridinic au dus la concluzia că stabilitatea macromoleculelor de elastină s-ar datora legăturilor ce rezultă din condensarea reziduurilor de lizină. Întrucît s-au evidenţiat trei inele piridinice în lanţul polipeptidic al macromoleculei de elastină ce include 1 1000 acizi aminaţi, s-a sugerat existenţa unor sisteme de interconectare situate la distanţe mari unul de altul, lipsite de rigiditate, capabile să dea naştere la cele mai neaşteptate configuraţii şi să dezvolte o entropie maximă (PARTRIDGE 1966).

În afara desmozinei şi izodesmozinei, a mai fost evidenţiat un amino acid denumit *lizinonorleucină* care ia naştere din condensarea a numai două molecule de lizină, participînd, de asemenea, la formarea legăturilor încrucişate (FRANTZBLAU şi col. 1965). În sfîrşit, a mai fost identificat şi amino acidul *merodesmozina*, tot polifuncţional, prezent numai în ţesutul elastic imatur. La embrion şi făt poate fi detectată şi *ditirozina*, un derivat al tirozinei care participă la formarea unor legături tranzitorii, înaintea dezvoltării celor care asigură stabilitatea permanentă a ţesutului elastic din artere (LaBELLA şi VIVIAN 1967). Mai menţionăm prezenţa în elastină a alizinei sau δ-semialdehida acidului α-aminoadipic (MILLER şi col. 1967), precum şi a numeroşi produşi intermediari de condensare aldolică, derivînd toţi din lizină şi participînd la formarea desmozinelor.

În *tabelul VI* prezentăm compoziţia în amino acizi a elastinei comparativ cu cea a colagenului şi glicoproteinelor de „structură" din peretele arterial. Sub denumirea de *tropoelastină* este prezentată în tabel elastina obţinută din aorta animalelor supuse la diete sărace în cupru. Această proteină cu legături intra şi intermoleculare mai reduse are şi o greutate moleculară de numai 67 000 în comparaţie cu cea a elastinei de 300 000. Tropoelastina prezintă o mare bogăţie în lizină (47,5/1000 reziduuri de amino acizi, în comparaţie cu numai 7,6/1000 reziduuri în elastină), dar este lipsită de desmozină şi izodesmozină. Tot din tabelul VI se pot deduce asemănările şi deosebirile între compoziţia în amino acizi a elastinei şi colagenului. Atît în colagen, cît şi în elastină, aproximativ 1/3 din acizii aminaţi sînt reprezentaţi de glicină şi aproximativ 1/3 de prolină; deosebirile apar însă privind conţinutul foarte redus de hidroxiprolină şi absenţa hidroxilizinei în elastină. În elastină amino acizii apolari, de tipul alaninei, valinei, leucinei şi izoleucinei sînt predominanţi, în timp ce amino acizii polari, de tipul acidului aspartic, acidului glutamic, histidinei şi argininei sînt în cantităţi reduse. Cu toată această diferenţă în paternul amino acizilor, modul de formare al legăturilor inter-

moleculare este destul de apropiat, avînd ca punct comun lizina. Plecîndu-se de la aceste asemănări s-a emis ipoteza existenţei aceluiaşi precursor pentru elastină şi colagen. Această ipoteză este susţinută de observaţia că fibrele de colagen denaturate prin căldură sau prin alte procedee capătă proprietăţi elastice şi devin colorabile cu substanţe folosite pentru evidenţierea electivă a ţesutului elastic. Compararea *pattern*-ului amino acizilor din tabelul VI ar mai sugera că zona bogată în amino acizi apolari din lanţul polipeptidic al colagenului ar reprezenta subunitatea comună pentru cele două tipuri de macromolecule. Apariţia leziunilor de ateroscleroză ar fi precedată de modificări ale *pattern*-ului compoziţional al elastinei, în sensul apropierii de colagen. Se reduc cantităţile de amino acizi „polifuncţionali" de tipul desmozinei şi izodesmozinei şi devin predominanţi amino acizii polari (YU 1971).

TABELUL VI

Compoziţia în amino acizi a unor macromolecule din peretele arterial. Rezultatele sînt prezentate ca număr de amino acizi la 1 000 reziduri de amino acizi, în afară de colagen. Tropoelastina (elastină solubilă) a fost obţinută din aorta de pore cu deficit de cupru în alimentaţie (SANDBERG, WEISSMAN şi SMITH 1969), iar elastina insolubilă din aorta de pore normal (SANDBERG, WEISSMAN şi SMITH 1969); colagenul (rezultate exprimate în procente) provine din aorta de iepure supus la diete bogate în colesterol (FONTAINE, POLLACK, EBEL, PANTESCO 1967); glicoproteinele de structură au fost izolate din aorta de pore (ROBERT L., 1970)

Amino acizi:	Elastină solubilă	Elastină insolubilă	Colagen		Glicoproteine de structură	
			aorta normală	aorta aterosclerotică	solubile	insolubile
Acid aspartic	2.9	8.8	6.31	6.24	67.0	97.3
Hidroxiprolină	11.2	14.5	12.82	11.38	0	0
Treonină	13.8	7.4	1.91	1.87	35.0	58.0
Serină	9.4	8.1	2.66	2.35	37.0	61.0
Glutamină	18.3	20.9	11.67	11.34	100.0	100.0
Prolină	108.7	93.8	10,64	11.07	79.0	56.5
Glicină	333.7	328.9	28.00	25.77	200.0	95.3
Alanină	218.1	233.3	8.43	7.89	165.0	827.2
Cistină (1/2)	0.0	0.0	—	—	90.0	80.5
Valină	120.6	124.9	2.58	2.54	1.0	28.5
Metionină	0.0	1.7	1.24	1.22	0.5	0.7
Izoleucină	18.8	19.6	1.54	1.64	31.2	47.2
Leucină	46.2	57.4	3.93	4.09	73.0	82.0
Tirozină	15.6	16.9	0.97	1.13	17.2	30.3
Fenilalanină	27.9	32.3	2.13	2.18	27.3	33.5
Izodesmozină (1/4)	0.0	8.1	—	—	—	—
Desmozină (1/4)	0.0	8.3	—	—	—	—
Lizină	47.5	7.6	4.61	4.26	35.0	61.3
Histidină	0.0	1.1	1.09	1.09	12.0	23.5
Arginină	7,1	6.6	8.29	7.95	28.0	49.2
Hidroxilizină	—	—	1.05	1.25	1.3	—

Macromolecula de elastină ar conţine 0,2—2,0% *glucide*, concentrate mai ales în teaca periferică a fibrelor. Ţesutul elastic din artere ar fi mai bogat în glucide decît cel din plămîni şi ligamente. A fost identificat un material glucidic denumit „mucoid$_1$", considerat a juca un rol esenţial în menţinerea integrităţii structurale a fibrelor (BANGA şi SCHULER 1953; BANGA 1966). Alte materiale glucidice au fost implicate în interconectarea subunităţilor

Scanned with OKEN Scanner

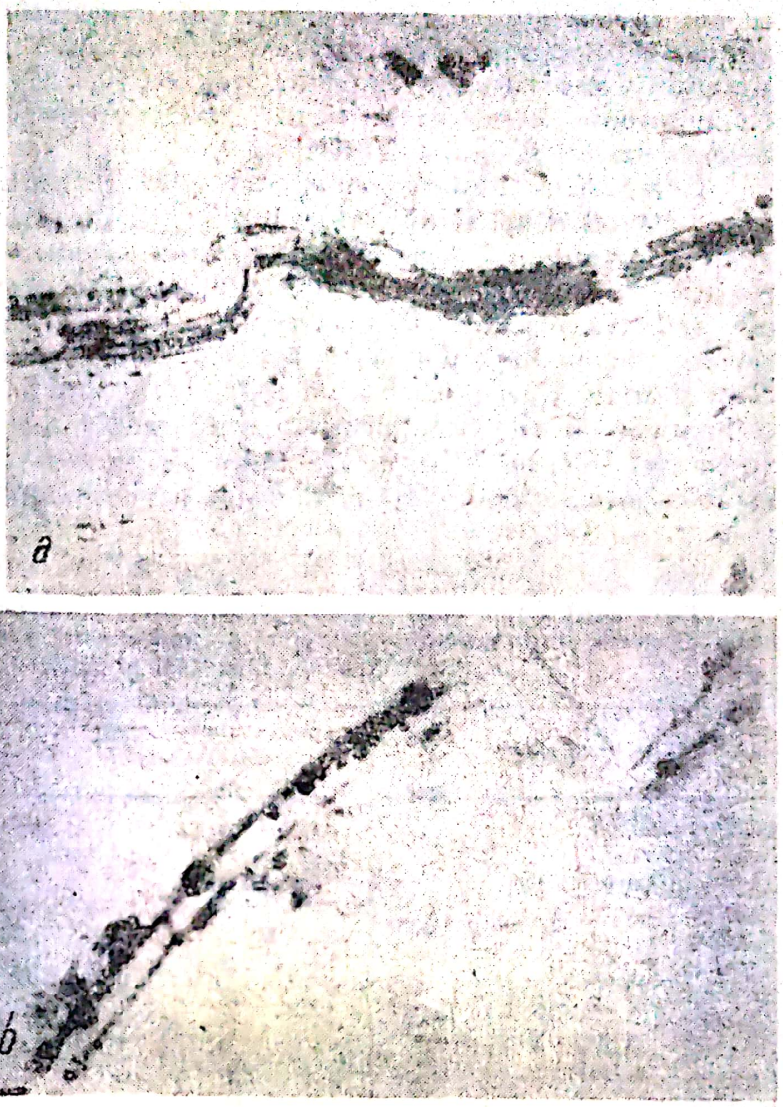


Fig. 34 Acumulare de fosfolipide, în special sfingomielină, pe membrana elastică internă a arterei femurale de om, ca stadiu incipient de formare a unui depozit lipidic. Prin bunăvoinţa prof. M. MARTINAZZI.

macromoleculei de elastină prin intermediul legăturilor de tip ester. Dintre glucidele izolate şi identificate menţionăm hexoze (galactoză, manoză), pentoze (xiloză, riboză, arabinoză), hexozamine (glucozamină şi galactozamină), fucoză şi acid sialic (MORET şi col. 1964). Se pare că rolul cel mai important al glucidelor ar consta în conferirea unei protecţii sterice faţă de acţiuni enzimatice specifice, de tipul celei exercitate de elastazele pancreatică şi trombocitară. Cu cît teaca perifibrilară este mai bogată în glucide, cu atît efectele enzimatice sînt mai puţin evidente (BANGA 1966).

Fibrele elastice conţin şi lipide, reprezentînd aproximativ 0,5% din greutatea uscată a macromoleculei de elastină. Lipidele eliberate în cursul procesului de elastoliză apar metacromatice la coloraţia cu albastru de toluidină, Schiff-pozitive, precum şi colorabile cu albastrul de Nil. Fracţia lipidică a elastinei ar include grăsimi nesaturate şi un pigment galben, similar lipocromului. S-a atribuit acestor lipide un anumit rol în „taninizarea" structurilor elastice, precum şi în protejarea acestor structuri de acţiunea destructivă a hidrolazelor. Alterările severe ale ţesutului elastic din artere ar induce „demascarea" lipidelor rezultînd, aşa cum am mai menţionat, acumulări perifibrilare de sfingomielină (*fig. 34*). Există variaţii ale cantităţii de lipide din elastină,

ce pot fi corelate cu specia, sexul, vîrsta, teritoriul arterial. Cu cît aorta se apropie de emergenţa iliacelor prezintă o cantitate mai mare de lipide, de acizi glutamic şi aspartic, precum şi de arginină (GRANT 1966). Tot progresiv, cu cît se apropie de emergenţa iliacelor, aorta prezintă o susceptibilitate mai mare la dezvoltarea plăcilor aterosclerotice.

Compoziţia chimică a macromoleculei de elastină variază cu vîrsta. Astfel, după cel de al doilea deceniu al vieţii încep să crească acizii glutamic şi aspartic, precum şi arginina (LANSING şi col. 1951), şi să scadă tirozina (LaBELLA şi col. 1967). Aceste modificări fac elastina mai rapid degradabilă sub acţiunea elastazei şi mai rapid extractibilă în soluţii alcaline. Fibrele elastice bogate în amino acizi apolari, cum sînt cele din arterele de adolescenţi şi adulţi tineri, necesită un timp dublu spre a fi degradate de elastază, în comparaţie cu cele de dimensiuni similare din arterele de bătrîni. Prezentăm, în *tabelul VII*, modificările de vîrstă ale *pattern*-ului amino acizilor elastinei, caracteristice perioadei fetale, adulţilor şi vîrstnicilor.

TABELUL VII

Principalii amino acizi constitutivi ai elastinei umane prezenţi în lamele elastice ale aortei. Valorile sînt exprimate ca reziduri de amino acizi per 100 000 g proteină (SERAFINI-FRACASSINI, TRISTAM şi AGNEW 1966.

Amino acizi	Feţi	Adulţi	Vîrstnici
Hidroxiprolină	11.4	11.3	11.5
Acid aspartic	3.0	7.0	11.4
Acid glutamic	19.0	20.1	26.7
Prolină	126.2	126.3	125.3
Glicină	362.5	361.6	354.6
Alanină	247.0	240.5	236.3
Valină	158.6	156.3	155.2
Metionină	0.0	1.1	3.0
Leucină	62.9	65.1	67.7
Lizină	8.8	6.2	6.3
Histidină	urme	1.0	2.3
Desmozină	1.7	1.7	1.7
Izodesmozină	1.3	1.2	1.3

b. PARTICULARITĂŢI ALE PROCESULUI DE SINTEZĂ

Identificarea desmozinei şi izodesmozinei, amino acizi „polifuncţionali" specifici macromoleculei de elastină, a furnizat cheia înţelegerii modului de formare a macromoleculei, evidenţiindu-se următoarea secvenţă a etapelor principale (*fig. 35*):

— dezaminarea oxidativă a grupării ε-amino din trei reziduuri de lizină din macromolecula de elastină nativă, denumită şi „proelastină", proces efectuat de lizil oxidaze şi avînd drept consecinţă apariţia de alizine;

— formarea dehidrolizinonorleucinei din alizină şi gruparea ε-amină a unui alt reziduu de lizină, reacţie de tip bază Schiff;

— reducere, cu formarea de lizinonorleucină;

— condensarea aldolică a două reziduuri de alizină, cu apariţia dehidromerodesmozinei;

— formarea desmozinei şi izodesmozinei prin introducerea unui al patrulea reziduu lizinic, probabil cu faze intermediare de tipul dehidrodesmozinelor.

Scanned with OKEN Scanner

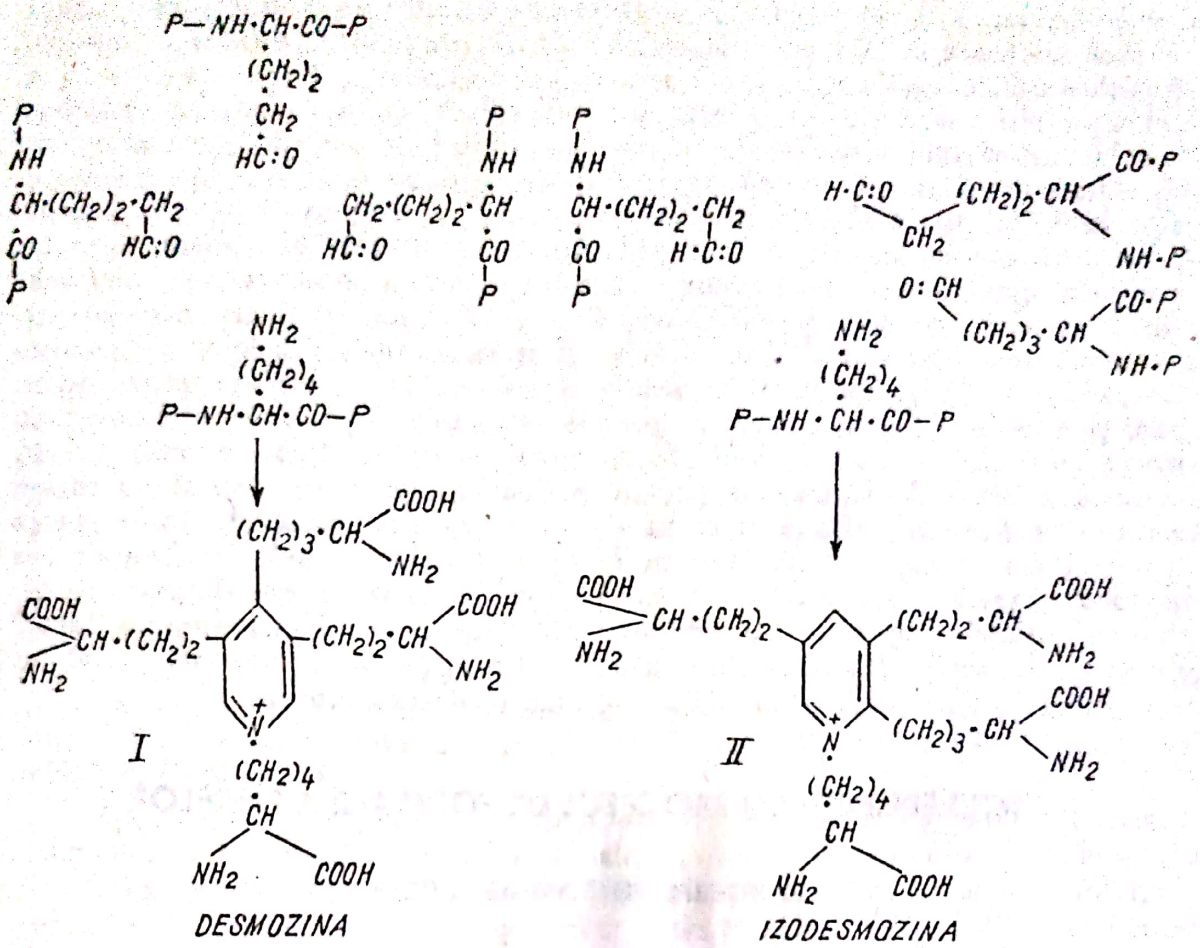


Fig. 35 Prezentare schematică a etapelor de formare a desmozinei (I) şi izodesmozinei (II) ca legături transversale într-o proteină solubilă, precursoare a elastinei. P. lanţurile peptidice ale precursorului elastinei (după STARCHER, PARTRIDGE, ELSDEN 1967, cu permisiunea de la American Chemical Society).

În esenţă, dezaminarea oxidativă a trei reziduuri de lizină cu formarea unor derivate semialdehidice ale acidului α-aminoadipic şi condensarea a trei astfel de reziduuri cu un reziduu de lizină neoxidat spre a da naştere unor legături transversale ciclice, reprezintă procesul de bază în apariţia formei „mature" a macromoleculei de elastină.

Lizina constituie substrat pentru enzime numai dacă este încorporată în legături peptidice; în stare liberă, acest amino acid nu poate fi dezaminat. Aorta de embrion produce, în culturi de ţesuturi, proteine solubile care sînt substrat pentru lizil oxidaze; cele mai mari dintre aceste proteine, avînd greutăţi moleculare între 68 000 şi 74 000, pot fi considerate „proelastine". S-a subliniat rapiditatea cu care aorta de embrion sintetizează desmozine, izodesmozine şi alţi derivaţi ai lizinei, încorporarea radioizotopilor şi apariţia legăturilor încrucişate durînd aproximativ o oră (MIYOSHI şi col. 1976).

Formarea fibrelor elastice include două faze mai importante. Prima pare a fi bazată pe un proces de coacervare, a doua pe legăturile încrucişate induse de desmozine şi izodesmozine. Procesul de coacervare ar fi dominat de legături hidrofobe, rezultînd o anumită dispoziţie ordonată a macromoleculelor,

ce favorizează, în timp, formarea legăturilor încrucișate stabilizatoare. Capacitatea de coacervare a fost detectată atît la precursorul solubil al elastinei (proelastina), cît și la principalii produși de degradare. Dintre acești produși, cei denumiți α-elastine au o greutate moleculară de aproximativ 70 000 și conțin lanțuri polipeptidice cu un număr variabil de legături covalente între ele. Dacă soluția în care se găsesc atît α-elastinele, cît și proelastina este încălzită la 37°C, apare o fază de separare, proteina devenind vîscoasă și luînd aspect de coacervat. La microscopul electronic cu rezoluție mare se poate constata apariția unor faze intermediare între simpla coacervare și structurile fibrilare cu o anumită periodicitate. S-au făcut unele analogii între coacervarea elastinei după încălzire la 37°C și reconstituirea fibrilelor de colagen din soluții încălzite tot la 37°C (COX și col. 1974). În ambele experimente, atît proelastina cît și colagenul solubil sînt treptat dispuse orientat prin intermediul unor asocieri hidrofobe între macromolecule; aceste asocieri creează o stare de stabilitate pentru perioadele de timp necesare formării legăturilor covalente. Dacă trecerea de la starea de coacervare la formarea legăturilor transversale este blocată, în locul fibrelor, lamelor și limitantelor elastice apar depozite amorfe. Această „pseudo-elastină" este frecvent întîlnită în intimele îngroșate ale arterelor coronare și poate constitui un factor mecanic de reținere a lipoproteinelor și fibrinogenului, mai ales cînd se întinde ca un film pe fața luminală a limitantei elastice interne.

3. INTERFERENȚE CU PROCESUL DE FORMARE A FIBRELOR

a. INTERFERENȚE METABOLICE

Procesul de formare al structurilor elastice din peretele arterial poate fi interferat de numeroși agenți hormonali, metabolici și hemodinamici, avînd ca rezultat apariția unor fibre inadecvate nevoilor locale. Ne vom limita, în rîndurile care urmează, să prezentăm doar cîteva exemple de interferențe metabolice.

Ionii metalici sînt solicitați atît pentru activitatea enzimatică a lizil oxidazei, cît și pentru a asigura enzimei forma și stabilitatea structurală necesară acestei activități. Din interacțiunea proteină enzimatică — ioni metalici rezultă o creștere a activității enzimei pînă la intensitățile maxime și o reglare adecvată a *turnover*-ului enzimei respective. Dintre ionii metalici necesari lizil oxidazei cel mai important este *cuprul*, care apare ca regulatorul biologic al ratei oxidării reziduului peptidil lizină în alizină, cu inițierea formării legăturilor transversale. În dietele deficitare în cupru se constată inactivarea enzimelor de tipul lizil oxidazelor, reflectată prin neconvertirea lizinei în produși intermediari și în ultimă instanță, în diminuarea numărului de legături transversale din macromolecula de elastină. La animalele supuse unor astfel de diete, aorta conține mai multă lizină și mai puține desmozine și izodesmozine în comparație cu animalele ținute la diete standard (MILLER și col. 1965). Această blocadă metabolică este reversibilă, activitatea enzimelor restabilindu-se odată cu aportul alimentar al unor cantități adecvate de cupru. Morfologic, deficiența formării legăturilor transversale este reflectată

Scanned with OKEN Scanner

prin apariţia de rupturi ale lamelor şi fibrelor elastice şi de fisuri în peretele arterial, favorizîndu-se astfel apariţia anevrismelor. La microscopul fotonic, fibrele elastice apar tumefiate, fragmentate, cu tendinţă la liză granulară; la microscopul electronic, aceste granule au un aspect vezicular, cu suprafeţe neregulate. Celulele musculare netede prezintă un reticul endoplasmic slab dezvoltat şi un aparat Golgi involuat, sugerînd diminuarea proceselor de sinteză. Anumite imagini prezintă acumulări de microfibrile ce nu sînt capabile să se organizeze în fibre; aceste microfibrile, intens colorabile cu acid fosfotungstic, ar fi formate din lanţuri polipeptidice bogate în lizină. În ceea ce priveşte comportarea mecanică a peretelui arterial, s-a constatat o alterare marcată a capacităţii de distensie şi a elasticităţii. Animalele cu deficit de cupru au prezentat şi o hipercolesterolemie mai marcată, dacă s-a adăugat colesterol în dietă, în comparaţie cu lotul supus aceleiaşi diete cu colesterol, dar cu aport normal de cupru (ALLEN şi KLEVAY 1978). Şi în alte investigaţii s-au notat corelaţii negative între valorile cupremiei şi ale colesterolemiei, sugerîndu-se că un deficit absolut sau relativ de cupru ar determina o creştere în sens aterogen a raportului zinc / cupru, cu mărirea semnificativă a incidenţei cardiopatiei ischemice (KLEVAY 1973, 1975). Asupra acestor date vom mai reveni în capitolul următor.

Anumiţi autori atribuie alterările limitantei elastice interne, prezente în mod constant în arterele coronare de copii, unor deficienţe prelungite, în cursul sarcinii, a aportului de cupru şi de vitamină B_6 (LEVENE şi MURRAY 1977; RANNIE 1977).

Latirismul interferează, de asemenea, cu formarea legăturilor transversale în macromolecula de elastină, blocînd conversiunea reziduurilor, de lizină în alizine. Acest efect rezultă atît din inactivări enzimatice, cît şi din cuplări ale agentului latirogen cu grupările reactive ale elastinei. Modelul experimental cel mai des folosit este bazat pe administrarea de BAPN (β-aminopropionitril). Majoritatea animalelor supuse acţiunii BAPN-ului mor prin anevrisme ale vaselor mari, datorită incapacităţii ţesutului elastic de a se adapta stresurilor hemodinamice. Dacă se adaugă, în mediul de cultură a celulelor musculare netede din aortă, lizină marcată şi BAPN, sinteza desmozinei şi izodesmozinei apare mult redusă. Blocada metabolică este evidentă în special la nivelul etapei de dezaminare oxidativă a lizinei de către lizil oxidaze spre a forma alizine. BAPN-ul ar inhiba activitatea acestor enzime, combinîndu-se şi cu grupările aldehidice din lanţurile polipeptidice ale „proelastinei", care devin astfel inapte a forma legături covalente. Atît animalele ţinute la diete sărace în cupru, cît şi cele supuse acţiunii agenţilor latirogeni, fac mult mai rapid leziuni de ateroscleroză experimentală în comparaţie cu cele supuse numai dietelor bogate în colesterol (BALIS şi col. 1966).

Penicilamina, un chelator al cuprului, are efecte de inhibare a dezaminării oxidative a reziduurilor de lizină, datorită formării unor complexe stabile între penicilamină şi alizine (PINNEL şi col. 1968). Modul cum interferează BAPN-ul şi penicilamina formarea legăturilor încrucişate în macromolecula de elastină este schematizat în *fig. 36*. BAPN-ul acţionează în primul rînd prin inhibarea activităţii lizil oxidazelor, blocînd conversiunea lizinei în alizine; penicilamina interacţionează cu alizinele, care devin inapte, din punct de vedere steric, să dea naştere desmozinei şi izodesmozinei.

Scanned with OKEN Scanner

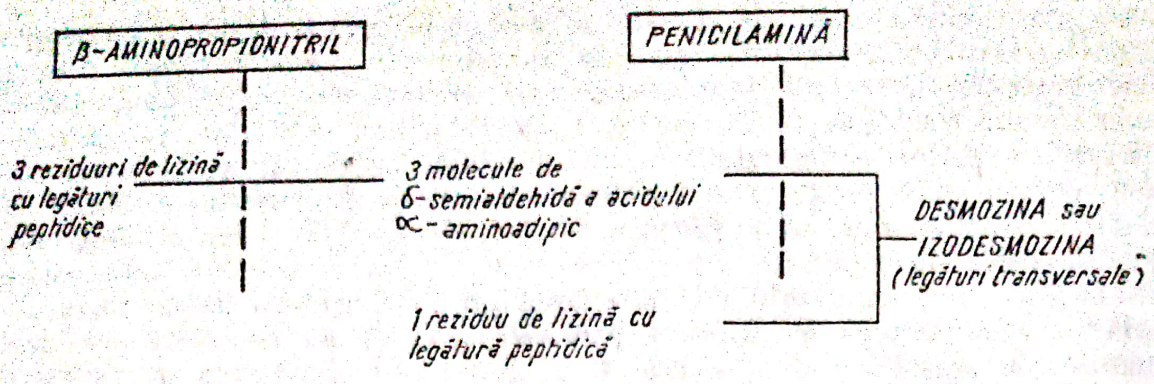


Fig. 36 Etapele sintezei desmozinelor în care intervin β-amino propionitrilul şi penicilamina pentru a bloca formarea legăturilor intermoleculare ce insolubilizează structurile elastice (după PINNEL, MARTIN şi MILLER 1968, cu permisiunea de la American Association for the Advancement of Science).

b. INTERFERENŢE HEMODINAMICE

Asupra acestui subiect s-au prezentat numeroase date în paginile anterioare şi nu mai revenim cu exemplificări adiţionale. Subliniem numai că într-un studiu comparativ efectuat asupra modificărilor ţesutului elastic în artere susceptibile şi nesusceptibile la apariţia plăcilor aterosclerotice, am putut evidenţia diferenţe semnificative (VELICAN D. şi VELICAN 1974). În arterele coronare şi aortă stresurile hemodinamice induc, încă din cursul vieţii fetale şi mai ales în primii ani după naştere, rupturi şi distorsionări, degradări şi lize ale lamelor şi limitantelor elastice. În arterele cerebrale şi renale alterările severe ale ţesutului elastic apar cu aproximativ două decenii mai tîrziu decît în arterele coronare şi aortă (VELICAN C. şi col. 1977).

4. ROLUL ELASTAZEI

S-a sugerat că degradarea intensă a ţesutului elastic din artere de către complexul enzimatic elastază, sintetizat de pancreas, ar reprezenta un factor favorizant sau chiar determinant al apariţiei leziunilor de ateroscleroză (LOEVEN 1966). Eliminat direct în circulaţia sistemică, sau vehiculat de sînge după ce a fost absorbit prin mucoasa intestinală, acest complex s-ar concentra în peretele arterial, determinînd grave alterări ale structurilor alcătuite din macromolecule de elastină. Această ipoteză a devenit mai cuprinzătoare în cursul ultimilor ani, odată cu demonstrarea existenţei unor enzime similare elastazei pancreatice, enzime ce sînt prezente în trombocite, polinucleare şi celulele musculare netede din peretele arterial.

Se consideră că organizarea, agregarea şi compoziţia chimică a macromoleculelor de elastină din microfibrile, fibrile, fibre, lame şi limitante elastice se găsesc în mod continuu, sub acţiunea modelatoare a complexului enzimatic elastază. Rata degradării elastinei de către enzimă ar fi influenţată de diete bogate în colesterol, care blocînd inhibitorii naturali ai enzimei, potenţează, în mod indirect capacitatea ei de degradare (BALÓ şi BANGA 1955; ALEKSEEVA 1960). Corelarea acţiunii difuze a elastazei cu caracterul localizat al plăcilor aterosclerotice s-ar putea explica prin existenţa unor zone cu permeabilitate endotelială crescută sau cu eroziuni endoteliale, ce permit tre-

cerea unor cantităţi mai mari de componenţi plasmatici în teritorii limitate ale intimelor îngroşate. În sprijinul acestei ipoteze ar pleda observaţia creşterii severităţii leziunilor de ateroscleroză experimentală după administrarea de elastoproteinază (LOEVEN 1967), sau a unui amestec conţinînd complexul elastază cu adaus de elastoproteinază (DALLOCCHIO şi col. 1967). S-a mai constatat existenţa unei corelaţii între concentraţia în ser a elastomucazei şi elastoproteinazei, pe de o parte şi gradul evoluţiei leziunilor de ateroscleroză şi de emfizem pulmonar, pe de altă parte (LOEVEN 1969 a, b).

Capacitatea ţesutului elastic de a lega elastaza a fost atribuită în primul rînd amino acizilor desmozină şi izodesmozină şi în mod secundar, creşterii cantităţilor de acizi aspartic şi glutamic capabili a exercita atracţii electrochimice. Ar exista o relaţie directă între intensitatea degradării sub acţiunea elastazei şi numărul de grupări acide libere pe suprafaţa macromoleculei de elastină. În consecinţă, se consideră intensificarea bazofiliei structurilor elastice ca un test al capacităţii lor de a lega cantităţi tot mai mari de elastază (BANGA 1966).

Dacă se analizează comparativ mecanismul de acţiune al proteazelor nespecifice şi al elastazei se poate constata că tripsina atacă în special legătura peptidică dintre grupările carboxilice ale amino acizilor bazici de tipul argininei şi lizinei; chimotripsina rupe legăturile de tip ester ale amino acizilor ciclici; elastaza, desface legătura implicînd gruparea carboxil a unor amino acizi neutri cu lanţ lung alifatic, cum ar fi leucina şi valina, cea mai des afectată fiind interconectarea dintre leucină şi tirozină. Din digestia cu elastază rezultă α-elastină, produs de degradare ce poate fi obţinut şi după incubare în reactivi chimici.

Introducerea elastazei în lumenul unei artere, între două ligaturi este urmată de degradarea lamelor elastice începînd de la endoteliu spre adventice, cu desfacerea locului de inserţie a celulelor musculare netede de pe lamele elastice, imaginile electrono microscopice fiind apropiate de cele prezentate în fig. 17. Se produce astfel o separare morfologică şi funcţională a ţesutului elastic de cel muscular, cu dereglarea răspunsului peretelui arterial la distensiile ritmice induse de trecerea undei pulsatile şi la alte tipuri de solicitări hemodinamice şi mecanice. Drept urmare, după injectarea elastazei în lumen, vasele supuse stresurilor hemodinamice prezintă o rezistenţă mult mai redusă la tracţiuni, apărînd rapid fragmentări şi rupturi ale lamelor elastice, urmate de procese de elastoliză. Se pare că prima acţiune exercitată de elastază asupra ţesutului elastic ar fi de tip mucolitic, urmată de cea elastolitică pură. Enzima care produce efecte glicolitice a fost denumită *elastomucază* sau E_1, elastomucoproteinază sau elastază mucoidă. Substratul asupra căruia acţionează a fost denumit $mucoid_2$ şi considerat o mucoproteină (BANGA 1966). Acest substrat bogat în fracţii glucidice ar fi concentrat în teaca perifibrilară şi ar reprezenta principalul component colorabil cu orceină sau cu rezorcin-fucsină. Observaţii la lumină polarizată au evidenţiat dispoziţia particulară a acestui material glucidic ce se înfăşoară în spirală în jurul nucleului central al fibrei. Atîta timp cît teaca perifibrilară glucidică rămîne nedegradată, elastaza nu poate ataca nucleul central proteic (ROMHÁNYI 1958, 1959). Aceasta ar explica de ce, dacă se adaugă elastomucază la elastroproteinază, activitatea acesteia din urmă creşte din punct de vedere al efectului elastolitic cu 80—100% (HALL 1957). Elastaza este capabilă să degradeze

Scanned with OKEN Scanner

şi chilomicronii şi să diminue opacitatea serului hiperlipemic; drept urmare s-a atribuit unui component enzimatic al complexului elastazei proprietăţi de lipoprotein lipază. Aceste proprietăţi au apărut în mai multe experimente după injectare de heparină, ceea ce ar sugera implicaţii mult mai complexe ale elastazei în patogenia aterosclerozei. Efectele lipolitice ale complexului enzimatic sînt foarte evidente *in vitro*, o macromoleculă de lipoproteină conţinînd 32% colesterol reducîndu-şi acest conţinut la numai 14% după digestia cu elastază (BANGA 1966). S-a dedus din aceste observaţii posibilitatea ca elastaza să degradeze şi lipidele acumulate în peretele arterial şi să joace un anumit rol în prevenirea aterosclerozei. S-a mai constatat că elastaza influenţează şi coagularea sîngelui; adăugată plasmei în doze mici ea scurtează timpul de coagulare, în timp ce dozele mari ar exercita un efect contrar (BAGDY 1966). Enzima ar interfera şi transformarea protrombinei în trombină, precum şi numeroşi factori implicaţi în cascada de reacţii a coagulării sîngelui.

Interesul pentru rolul jucat de elastază în patogenia aterosclerozei a crescut considerabil după descoperirea prezenţei enzimei în trombocite (ROBERT B. şi col. 1970). Eliberarea acestei enzime, cu pătrunderea ei ulterioară în peretele arterial ar putea fi indusă de toţi factorii şi toate condiţiile care produc agregarea şi degranularea trombocitelor şi în primul rînd de descărcările de catecolamine. Fibrele elastice puse în contact cu elastaza trombocitară prezintă o susceptibilitate crescută la degradare prin proteaze nespecifice de tipul tripsinei (ROBERT B. şi col. 1971). S-a descris şi o elastază prezentă în lizozomii celulelor musculare netede din peretele arterial (LOEVEN 1969 a); datorită existenţei acestui complex enzimatic, extractele de aortă de om sau de animale de laborator exercită acţiuni elastolitice, evidente în special în culturi de ţesuturi (ROBERT B. şi col. 1974).

S-a sugerat că fibrele elastice parţial degradate de elastază ar elibera peptide solubile, apte să determine producerea de anticorpi antielastină. Aceşti anticorpi s-ar fixa pe ţesutul elastic alterat, potenţînd în continuare acţiunea destructivă a elastazei (ROBERT L. şi col. 1970).

5. INTERRELAŢII ELASTINĂ-LIPIDE

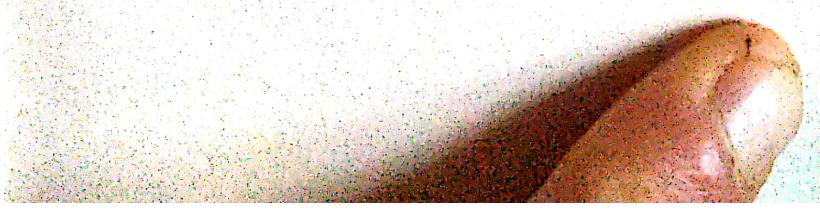
O problemă mult discutată în legătură cu rolul aterogen potenţial al ţesutului elastic din peretele arterial o constituie afinitatea elastinei pentru lipoproteine. Interesul pentru această problemă a crescut considerabil prin evidenţierea captării colesterolului marcat la nivelul lamelor şi limitantelor elastice. Datele cele mai concludente au fost obţinute prin administrarea colesterolului marcat la muribunzi. Histoautoradiografia arterelor, efectuată *post mortem*, a evidenţiat acumularea radioizotopului în lamele elastice alterate. În zonele unde existau plăci aterosclerotice, capacitatea elastinei de a reţine colesterolul marcat a fost de două ori mai mare decît în zonele vecine leziunilor (KRAMSCH şi col. 1970 a). Incubarea unor fragmente de perete arterial avînd leziuni de ateroscleroză, cu lipoproteine serice marcate cu radioizotopi a adus o nouă dovadă că ţesutul elastic are o afinitate specială de a reţine lipoproteinele, mai ales acelea din clasele β şi pre-β. După 24 de ore

de incubaţie, peste 75% din colesterolul total vehiculat de aceste lipoproteine se găsea inclus în lame şi limitante elastice. Captarea a apărut cu atît mai intensă cu cît cantitatea de lipoproteine pusă în mediul de incubaţie a fost mai mare. Nu s-au observat reţineri ale α-lipoproteinelor, nici ale chilomi-

Fig. 37 Autohistoradiografia unei mici plăci aterosclerotice din artera femurală de om, după administrare intravenoasă de ^{3}H-colesterol. Banda neagră reprezintă acumulări dense de colesterol marcat, electiv acumulat în limitanta elastică reduplicată şi fragmentată. Coloraţiile pentru lipide nu au evidenţiat prezenţa lor pe secţiune. Durata expunerii autohistoradiografiei: 3 săptămini, ×600 (după KRAMSCH, HOLLANDER şi FRANZBLAU 1970, cu permisiunea Editurii Springer, Berlin, New-York).

cronilor (KRAMSCH şi col. 1970 a). Un aspect sugestiv al captării elective de colesterol marcat de către limitanta elastică internă de la baza unei intime îngroşate este prezentat în *fig. 37*. În plăcile aterosclerotice, cantitatea de lipide din ţesutul elastic poate creşte de la normalul de 0,5—2% la peste 33%. Creşterea este datorată în primul rînd acumulării de esteri de colesterol şi în mai mică măsură colesterolului liber, trigliceridelor şi fosfolipidelor (KRAMSCH şi col. 1971). *Tabelul VIII* permite să se constate o încorporare progresivă a lipidelor în ţesutul elastic al arterelor, pe măsură ce leziunea de ateroscleroză evoluează spre forme mai severe. Pe baza acestor determinări biochimice s-a ajuns la concluzia că, în anumite plăci aterosclerotice, peste 30% din colesterolul esterificat existent în leziune este inclus în structurile elastice.

În cursul lipemiei „acute", obţinută la iepuri prin administrare de doze mortale de colesterol, s-a detectat, la microscopul electronic, apariţia unor zone de densitate redusă în lungul lamelor şi limitantelor elastice. Aceste modificări, afectînd teritorii cu diametre între 1,8 şi 10,5 nm, au fost considerate ca rezultînd din difuzarea lipidelor în masa ţesutului elastic. S-a sugerat că acest ţesut ar funcţiona ca faza staţionară în cromatografia pe hîrtie, iar lipidele ce trec cu componentele plasmatice ar reprezenta faza mobilă. Ar rezulta o „cromatografiere" a lipidelor în ţesutul elastic al peretelui arterial (PARKER 1960). Nu se cunoaşte mecanismul prin care lipidele din lipoproteine induc alterarea lamelor şi limitantelor elastice. S-au sugerat acţiuni similare unor solvenţi organici care ar face elastina mai susceptibilă degradării prin elastază (ROBERT L. şi col. 1972).



Scanned with OKEN Scanner

Variaţiile cantităţilor de proteine şi de lipide (totale, colesterol esterificat, colesterol liber, fosfolipide şi trigliceride) în ţesutul elastic al intimei aortei de om, în stadii succesive de dezvoltare a plăcilor aterosclerotice. Rezultatele sînt prezentate ca mg/g de elastină (după KRAMSCH, FRANZBLAU şi HOLLANDER 1971, cu permisiunea Editurii The Rockefeller University Press, New York)

Ateroscleroza intimei	Proteine totale	Lipide totale	Colesterol esterificat	Colesterol liber	Fosfolipide	Trigliceride
Gradul 0 (intimă normală)	987.2 ±2.4	12.8 ±2.4	7.9 ±1.7	1.3 ±0.7	1.0 ±0.3	2.6 ±0.8
Gradul I placă aterosclerotică	895.6 ±40.1	104.4 ±40.1	75.2 ±30.2	11.8 ±5.6	4.8 ±2.3	12.6 ±3.0
zonă „normală" adiacentă plăcii	986.9 ±4.7	13.1 ±4.7	8.2 ±3.3	1.2 ±0.9	0.9 ±0.4	2.8 ±1.2
Gradul II placă aterosclerotică	787.2 ±16.9	212.8 ±16.9	166.5 ±6.9	31.2 ±12.6	10.4 ±0.8	4.7 ±0.5
zonă „normală" adiacentă plăcii	984.0 ±2.4	16.0 ±2.4	8.6 ±2.7	1.7 ±0.2	1.8 ±0.7	3.9 ±1.6
Gradul III placă aterosclerotică	625.6 ±52.2	374.4 ±52.2	222.0 ±15.8	89.1 ±23.5	17.4 ±5.1	45.2 ±23.6
zonă „normală" adiacentă plăcii	881.4 ±36.2	118.5 ±36.2	82.7 ±24.4	14.4 ±5.6	8.8 ±6.5	11.5 ±1.0

6. CALCIFICAREA ELASTINEI

Calcificarea reprezintă una dintre principalele modificări de vîrstă ale ţesutului elastic din artere şi un aspect dominant al leziunilor avansate de ateroscleroză. Poate fi evidenţiată pe secţiuni microscopice cu coloranţi alizarinici, prin microincinerare, prin microscopia cu interferenţă, microscopia electronică sau *intra vitam* cu ajutorul radiografiilor. Histochimic pot fi observate depuneri de calciu pe lamele elastice din aorta de om la toţi subiecţii ce au depăşit vîrsta de 30 de ani (VIKHERT şi SOKOLOVA 1968). Calcificarea precedă de multe ori dezvoltarea plăcilor aterosclerotice şi contribuie la apariţia acestor plăci prin crearea unui baraj suplimentar în calea trecerii lipoproteinelor şi fibrinogenului dinspre lumen spre adventice; se intensifică, de asemenea, stresurile hemodinamice în zonele cu ţesut elastic calcificat care îşi pierde distensibilitatea şi elasticitatea, şi astfel se accentuează acţiunile erozive ale stresului de dragare asupra endoteliului.

Trei probleme sînt frecvent discutate în legătură cu procesul de calcificare a arterelor şi cu rolul său potenţial aterogen: 1) modificările ce apar în organizarea macromoleculară şi compoziţia chimică a elastinei şi care ar

putea favoriza calcificarea; 2) natura fizică şi chimică a calciului ce se depune pe ţesutul elastic; 3) condiţiile locale care induc această depunere.

Concentraţia calciului în artere creşte de la 0,10—0,13% ţesut uscat în primele două decenii ale vieţii, la 1,10—1,51% în deceniile patru şi cinci, la 2,49% în al şaselea deceniu şi la 5,45% în cel de al şaptelea deceniu (YU 1967). S-au detectat şi valori ce depăşeau 6,8% şi chiar 13% din greutatea uscată a aortei, mai ales la bătrîni, situînd acest vas pe locul trei în organism în ceea ce priveşte bogăţia în calciu, după os şi dinte. Se menţionează o corelaţie între rapiditatea calcificării arterelor la anumite grupe de populaţii şi rapiditatea dezvoltării leziunilor de ateroscleroză (ANDERSON şi col. 1959). Plecîndu-se de la aceste constatări s-a încercat să se delimiteze implicaţiile clinice ale calcificării folosindu-se examenele fluoroscopice. S-a observat, printre altele, că prevalenţa leziunilor coronariene cu caracter obstructiv este mai mare la subiecţii cu calcificări aortice (EGGEN şi col. 1964). Valoarea prognostică a detectării calcificărilor apărute în arterele coronare constă în posibila asociere a acestor calcificări cu existenţa leziunilor stenozante. Se mai susţine valoarea examenului radiologic şi pentru evidenţierea calcificărilor ca test de existenţă a unui stadiu preclinic al aterosclerozei coronarelor. În acest sens ar pleda corelaţiile „excepţional de ridicate" menţionate de anumiţi autori între calcificarea coronarelor, detectată *in vivo*, şi gradul de ateroscleroză constatat *post mortem* (JØRGENS 1963).

Spre deosebire de os, unde calcificarea are ca substrat fibra de colagen, peretele arterial se calcifică prin intermediul fibrelor, lamelor şi limitantelor elastice, fără nici o implicare majoră a colagenului. În consecinţă, tratarea cu colagenază împiedică calcificarea osului, dar nu are efect asupra calcificării peretelui arterial, în timp ce incubaţia cu elastază are efecte contrarii. *Fig. 38* prezintă o imagine electronomicroscopică a unei aorte de şobolan incubată *in vitro* cu ser de şobolan conţinînd calciu marcat. Se poate observa mineralizarea intensă a lamelor elastice şi absenţa depunerii de calciu pe fibrele adiacente de colagen. Unele investigaţii au ajuns la concluzia că macro-

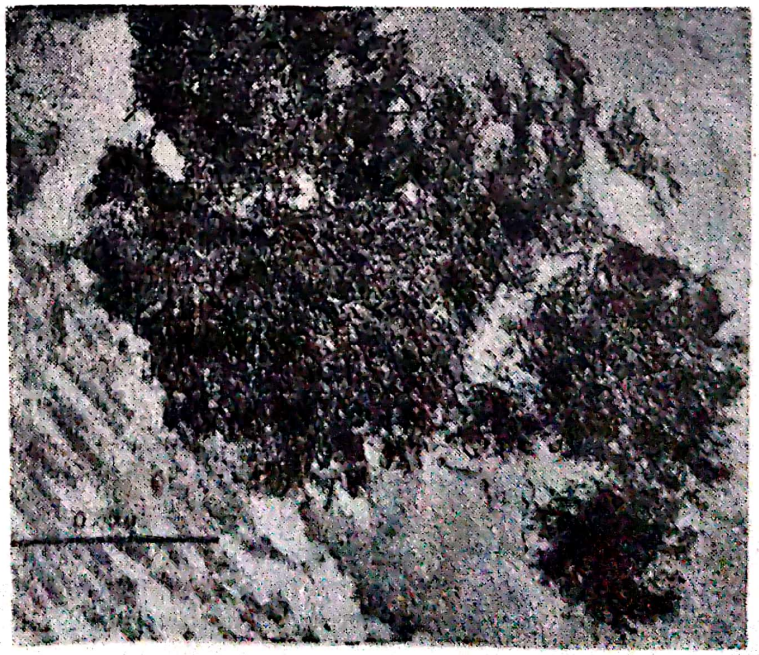


Fig. 38 Aortă de şobolan incubată *in vitro* cu ser de şobolan conţinînd calciu marcat. Imagine electronomicroscopică demonstrînd mineralizarea intensă a lamei elastice (cristale negre), în timp ce fibrele de colagen adiacente nu sînt calcificate. Coloraţie cu soluţie concentrată de acetat de uranil în alcool etilic 50% (după SCHIFFMANN, MARTIN, MILLER, cu permisiunea Editurii Meredith Corporation, New York).

molecula de elastină, așa cum este sintetizată la făt, nou-născut, copil și adolescent nu are capacitatea de mineralizare. Această capacitate devine evidentă la adult și ea ar rezulta dintr-o schimbare, genetic programată, a *pattern*-ului de sinteză al elastinei, modificarea cea mai evidentă fiind creșterea cantitativă a acizilor aspartic și glutamic. Această creștere duce la o dublare a numărului grupărilor carboxilice de suprafață, dar nu poate explica afinitatea deosebită pentru calciu a macromoleculei de elastină care se mărește de 10—12 ori. S-a sugerat că suprafața electro-negativă, bogată în grupări carboxilice, ar iniția doar primele centre de nucleere care, prin autoîntreținere, duc apoi la o calcificare masivă. În aceste centre s-ar depune primele cristale mici anorganice de hidroxiapatită, apărînd sub aspectul unor formațiuni hexagonale cu diametre între 40 și 160 Å (SERAFINI-FRACASINI și GOTTE 1965). Depozitele de apatită din aortă și din alte artere sînt mixturi de carbonați și de hidroxiapatite, incluzînd și cantități variabile de apatite deficitare în calciu. Condițiile termodinamice care ar determina ca un prim grăunte de calcificare să inducă în jurul său o rată importantă de cristalizare pînă se epuizează toți ionii de calciu din mediul respectiv sînt puțin cunoscute. Se pare că mineralizarea ar avea loc indiferent de prezența sau absența celulelor musculare netede, apariția calcificării fiind strîns legată numai de *pattern*-ul chimic al macromoleculelor de elastină. Blocarea grupelor amino sau dezaminarea lor, ca și blocarea sau conversiunea grupelor sulfhidril ale elastinei, împiedică procesul de calcificare (SCHIFFMANN și col. 1964 a, b). S-a mai constatat că și desmozinele și izodesmozinele ar fi implicate în inițierea calcificării, deoarece fracțiile piridinice încărcate pozitiv ar putea atrage ionii fosfat. Adăugarea de mucopolizaharide acide la mediul de incubație conținînd ser și perete aortic, potențează depunerile de calciu, grupele sulfat ale mucopolizaharidelor acționînd ca rășini schimbătoare de cationi; ele ar capta ionii de calciu din mediul de cultură, concentrîndu-i în zona de calcificare.

De o importanță deosebită pentru inițierea calcificării în arterele de om par a fi descărcările repetate de catecolamine. Adrenalina injectată la iepuri produce modificări în *pattern*-ul de sinteză al elastinei, potențînd creșterea acizilor glutamic și aspartic. O intensificare a calcificării mai poate fi obținută la animalele mici de laborator și prin stimularea axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal. În sfîrșit, mai menționăm că și dietele bogate în colesterol potențează calcificarea arterelor, ca și hipertensiunea arterială sau tratamentele cu pitresină, papaină, BAPN, vitamină D și substanțe înrudite. În special vitamina D_3 s-a dovedit capabilă să mărească considerabil afinitatea arterelor pentru săruri de calciu, depunerile fiind precedate de o intensificare a sudanofiliei și alcianofiliei fibrelor elastice și mai ales a tecii lor periferice.

Se fac numeroase încercări de a se descoperi substanțe apte a inhiba procesul de calcificare al arterelor odată cu înaintarea în vîrstă și cu apariția leziunilor aterosclerotice. Dintre aceste substanțe este mult folosit în investigații experimentale produsul EHDP (etan-1-hidroxi-1,1 acid fosforic) ca și alți derivați ai acizilor difosforici conținînd legături P-C-P. S-au obținut rezultate încurajatoare mai ales în inhibarea calcificării indusă de vitamina D (POTOKAR și SCHMIDT-DUNKER 1978).

F. FIBRELE DE COLAGEN

1. DATE INTRODUCTIVE

Implicaţiile macromoleculei de colagen în aterogeneză includ: modul de adaptare şi remodelare al peretelui arterial la stresuri hemodinamice; dezvoltarea proceselor reparatoare şi de cicatrizare; trecerea macromoleculelor de lipoproteine şi fibrinogen prin intimele îngroşate; aderarea şi degranularea trombocitelor pe suprafeţele endoteliale erodate; evoluţia spre plăci fibroase a microtrombilor încorporaţi în intime; formarea plăcilor fibroase din plăci gelatinoase; organizarea şi canalizarea trombilor ocluzivi etc. Dintre toate aceste implicaţii cea mai importantă pentru aterogeneză pare a fi formarea plăcilor fibroase, leziuni „prototip" ale aterosclerozei umane şi spontane a animalelor.

Principala caracteristică biologică a macromoleculelor de colagen este capacitatea de autoasamblare, ducînd, în condiţii fiziologice, la formarea de fibrile şi fibre cu o mare rezistenţă la întindere, cu o elasticitate foarte redusă şi cu un *turnover* extrem de lent.

Macromolecula de colagen, aşa cum este eliminată în spaţiile extracelulare ale intimei şi mediei arterelor, apare ca o formaţiune cilindrică, cu dimensiuni de 300×0,14 nm, avînd diametrul transversal de aproximativ 15 Å şi lungimea de 2 800—3 000 Å, iar greutatea moleculară de aproximativ 300 000. Această macromoleculă reprezintă *unitatea monomerică a tuturor structurilor colagene* şi *un component important în membranele bazale şi reţelele reticulinice.*

Din polimerizarea lineară a macromoleculelor de colagen rezultă *microfibrilele*, denumite şi fibrile primare sau protofibrile, ce prin asociere laterală şi în lungul axului longitudinal, dau naştere la *fibrile*. Microfibrilele au diametre între 30—100 Å, nu prezintă periodicităţi caracteristice la microscopul electronic, dar pot fi evidenţiate prin colorаţii speciale. Fibrilele rezultă din agregarea microfibrilelor; diametrul lor variază între 300—700 Å, fiind clar vizualizate la microscopul electronic, sau la cel fotonic cu cîmp întunecat şi polarizare. În sfîrşit, forma superioară de organizare a macromoleculei de colagen o reprezintă *fibrele* ce sînt în mod curent observate la microscopul fotonic folosind variate metode de colorare a ţesutului conjunctiv şi în primul rînd picrofucsina Van-Gieson. Diametrele fibrelor variază între 100—200 nm, lungimea este extrem de greu de precizat datorită dispoziţiei în spirală, în schimb poate fi uşor testat gradul de rezistenţă la degradare enzimatică sau chimică.

Considerăm că este necesar să clarificăm în cadrul acestor date introductive, semnificaţia anumitor termeni folosiţi în studiile privind sinteza, metabolismul, degradarea şi organizarea macromoleculei de colagen. Astfel, termenul de *precolagen* este atribuit unui material amorf avînd anumite afinităţi tinctoriale cu fibra de colagen şi considerat a reprezenta un precursor al fibrei; *procolagenul* ar reprezenta un material extras din fibra de colagen în cursul incubaţiilor cu tampon citrat şi care ar fi acumulat în teaca externă a fibrelor (TUSTANOVSKI şi col. 1960), fiind capabil de a reprecipita fibrilar cu periodicitatea tipică a fibrelor de colagen (OREHOVICI şi col. 1960); termenul de *protocolagen* este atribuit lanţului polipeptidic ce reprezintă

Scanned with OKEN Scanner

substratul specific al prolin hidroxilazei; *eucolagen* este un termen ce se referă la colagenul obținut prin extracții cu soluții alcaline, iar *metacolagenul* ar rezulta din tratarea fibrelor cu substanțe liotrope, constituind o formă particulară a colagenului insolubil, dotat cu anumite proprietăți elastice (BANGA și col. 1965; BANGA 1966).

Fibra de colagen reprezintă elementul structural de bază al peretelui arterial, asigurînd integritatea structurală și funcțională a acestui perete. Fibra de colagen constituie și elementul structural de bază al plăcilor aterosclerotice și în primul rînd al plăcilor fibroase. În consecință, studiul macromoleculei de colagen reprezintă și un subiect important pentru etiopatogenia aterosclerozei.

2. MACROMOLECULA DE COLAGEN

a. STRUCTURĂ

Macromolecula de colagen, frecvent denumită și *tropocolagen*, este formată din trei lanțuri polipeptidice ale căror axe individuale nu sînt strict paralele cu axul fibrei, fiecare constituind o spirală; cele trei lanțuri se înșurubează împreună spre dreapta în jurul unui ax comun realizînd *triplul helix*, caracteristic macromoleculei de colagen. Date de sinteză asupra acestui subiect au fost prezentate în monografii anterioare (VELICAN C. 1974; VELICAN C. și VELICAN 1970).

Cele trei lanțuri constitutive ale triplului helix sînt denumite α, au greutăți moleculare între 95 000 și 98 000, valoarea greutății moleculare pentru întreaga macromoleculă fiind de 294 000. Fiecare lanț conține aproximativ 1 000 de amino acizi în secvență liniară, al treilea amino acid fiind invariabil *glicina*. Lanțul α apare astfel ca un polimer de unități tripeptidice avînd formula: $(X - Y - \text{glicină})_n$. Există deosebiri cantitative și calitative în *pattern*-ul amino acizilor constitutivi ai lanțurilor α, deosebiri ce stau la baza individualizării de lanțuri α_1, α_2, α_3 etc. În lanțurile α_1 există, în comparație cu lanțurile α_2, cantități mai mari de hidroxiprolină, prolină, alanină, fenilalanină și lizină, în timp ce acidul aspartic, valina, leucina, hidroxilizina și histidina sînt în cantități mai reduse. În lanțul α_3 apare un reziduu de triptofan la 1 000 reziduuri amino acizi, triptofanul lipsind în lanțurile α_1 și α_2. Dacă în triplul helix al macromoleculei de tropocolagen există numai un singur tip de lanțuri, macromolecula este un homopolimer; dacă include variate tipuri de lanțuri ea are structura unui heteropolimer.

Pe baza organizării macromoleculare a fibrelor se descriu mai multe clase sau tipuri de colagen, patru dintre ele fiind mai bine cunoscute: tipul I, adaptat rezistenței la tracțiune; tipul II adaptat rezistenței la presiune; tipul III adaptat distensiilor multidirecționale și tipul IV care conferă atît rezistență cît și un anumit grad de permeabilitate.

În peretele arterial normal 40—70% din totalul macromoleculelor de colagen aparțin tipului III și 10—40% tipului I. Tipul III este caracterizat prin prezența în triplul helix a trei lanțuri de tipul α_1; el apare astfel ca un homopolimer, avînd formula $(\alpha_1\ (\text{III}))_3$. Homogeneitatea structurală este însă o noțiune relativă, anumite lanțuri α_1 fiind în realitate heterogene întrucît includ și fracții de lanțuri α_3. În ceea ce privește colagenul de tip I el include

două lanțuri similare α_1 și un lanț α_2, diferit din punct de vedere al compoziției chimice de cele α_1. Apare astfel ca un heteropolimer, avînd formula următoare: (α_1 $(I)_2$ α_2). Raportul stoichiometric între lanțurile α_1 și α_2 din tipul I de colagen variază cu diferențe nesemnificative în jur de 2/1.

Odată cu dezvoltarea plăcilor fibroase aterosclerotice se sintetizează aproape în exclusivitate colagenul de tip I, sugerînd o modulație funcțională sau o dediferențiere a celulei musculare din peretele arterial. Ca urmare a acestei schimbări, raportul colagen I / colagen III care în vasul normal este de aproximativ 1/4, devine 1/1 sau chiar 2/1. Cu cît placa fibroasă evoluează și cuprinde o suprafață mai mare a intimei îngroșate, cu atît cantitatea de colagen de tip I devine, în respectiva zonă, predominantă în raport cu colagenul de tipul III. Reamintim că tipul I de colagen prezent în plăcile fibroase aterosclerotice predomină în condiții fiziologice în tendoane și oase, în timp ce colagenul de tipul III, prezent în peretele arterial normal, se găsește în cantitate mare în condiții fiziologice numai în piele. Colagenul de tipul IV inclus în structura membranelor bazale și rețelelor reticulinice este prezent și în membranele bazale ale celulelor musculare netede din peretele arterial, dar în concentrații extrem de mici. Dispariția sa și înlocuirea cu colagenul de tipul I pare să fie urmată de o scădere considerabilă a permeabilității celulare, favorizîndu-se astfel procesele de hipoxie și necroză.

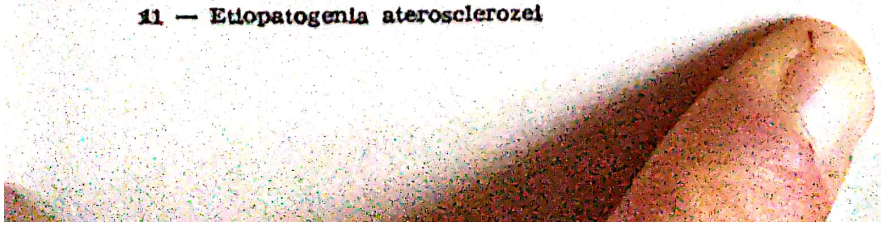
S-au descris variate subunități ale lanțurilor polipeptidice; pentru exemplificare, menționăm un studiu în care au fost evidențiate șase astfel de subunități, fiecare avînd o greutate moleculară de 17 000. Au fost desemnate A, B și C, rezultînd următoarea schemă de alcătuire a macromoleculei:

Lanțul α_1=3 A+2 B+C; lanțul α_2=3 C+2 A+B; lanțul α_3=3 B+ 2 C+A. În acest model, două subunități cu greutate moleculară 34 000 și două subunități cu greutate moleculară 7 000 sînt interconectate prin trei seturi duble de legături de tip ester (GALLOP 1966).

Aproximativ 70% din macromolecula de colagen este alcătuită din secvențe nepolare de tip (glicină — prolină — x)$_n$, alternînd cu secvențe conținînd amino acizi polari, în următorul mod: — (glicină — prolină X)$_n$ — secvență cu amino acizi polari — (glicină — prolină — X)$_n$ — secvență cu amino acizi polari etc. Deoarece regiunile apolare constituie mai mult de 2/3 din totalul secvențelor se poate deduce dominanta tripletei (glicină — prolină — X)$_n$ în organizarea macromoleculară a colagenului.

Triplul helix nu se întinde în întreaga macromoleculă, la capetele terminale ale lanțurilor existînd zone fără dispoziție helicoidală, ce apar sub aspectul unor mici lanțuri drepte. Acești apendici par a juca un rol fundamental în stabilizarea structurală a macromoleculei. Sînt degradați de proteaze nespecifice care nu modifică triplul helix, dar pot afecta procesul de polimerizare și agregare a macromoleculei, necesar formării fibrilelor. În afara procesului de polimerizare, acești apendici terminali ar mai fi implicați în îmbătrînirea colagenului, în reacții imunologice, în degradările ce precedă formarea plăcilor aterosclerotice. Din punct de vedere al constituției chimice, menționăm bogăția în acid aspartic, acid glutamic și tirozină, precum și prezența cisteinei.

Fig. 39 sintetizează principalele particularități chimice ale întregii macromolecule de colagen. Datele au numai o valoare relativă, de orientare, *pattern*-ul amino acizilor colagenului variind între diferite teritorii arteriale și în lungul aceluiași vas, precum și cu înaintarea în vîrstă, sexul, asocierea anu-



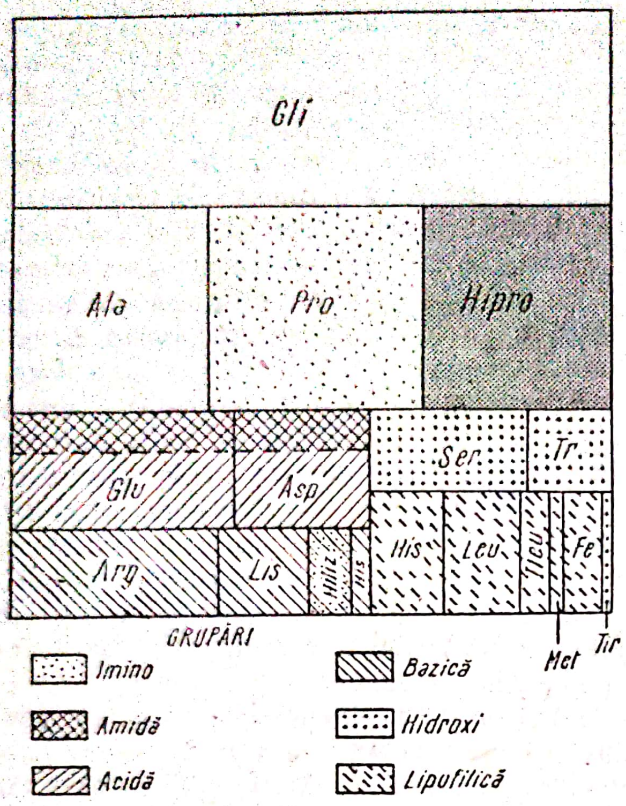


Fig. 39 Diagramă reprezentînd cantităţile relative ale principalilor aminoacizi ai macromoleculei de colagen (tropocolagen), exprimate prin suprafeţele proporţionale cu cantitatea fiecărui aminoacid. Prescurtări: Gli, glicină; Ala, alanină; Pro, prolină; Hipro, hidroxiprolină; Glu, acid glutamic; Asp, acid aspartic; Ser, serină; Tr, treonină; Arg, arginină; Liz, lizină; Hiliz, hidroxilizină; His, histidină; Val, valină; Leu, leucină; Ileu, izoleucină; Met, metionină; Fe, fenilalanină; Tir, tirozină. Sînt prezentate şi proporţia diferitelor grupări reactive (imino, amidă, acid, bază, hidroxil, lipofilică etc.) existente în macromolecula de colagen (după EASTOE 1967, cu permisiunea Editurii Academic Press, New-York).

mitor procese patologice cum ar fi apariţia hipertensiunii arteriale. În peretele arterial cantitatea de hidroxiprolină şi hidroxilizină din macromoleculele de colagen este mai mică decît în alte teritorii bogate în ţesut conjunctiv, iar 3-hidroxiprolina este frecvent absentă; s-au notat şi cantităţi mai reduse de cisteină. Aceste constatări ar sugera existenţa unor mutaţii de ordin genetic ce induc diferenţe în paternul de sinteză. Deoarece fiecare lanţ α conţine aproximativ 100 de triplete de tipul (glicină — prolină — X)$_n$ şi în fiecare lanţ cel puţin 50 de triplete pot apărea sub forma glicină—X-hidroxiprolină, sau glicină—X-prolină sau sub alte forme, există cel puţin 2^{50} sau 1×10^{15} posibilităţi de compoziţie în amino acizi a fiecărui lanţ (GRANT şi PROCKOP 1972).

Un component important al macromoleculei de colagen îl constituie *glucidele*. Cantitatea variază între 0,3—14%, valorile cele mai ridicate aparţinînd macromoleculei de colagen din membranele bazale. Acest colagen, foarte bogat în hexoze, are o tendinţă redusă de a forma fibrile sau fibre şi nu prezintă la microscopul electronic periodicitatea caracteristică. Cantitatea de glucide legată de hidroxilizina din macromolecula de colagen este de 7—30 de ori mai mică în intima şi media arterelor decît în membrana bazală a glomerulilor renali. În colagenul din peretele arterelor numai aproximativ 13% din reziduurile de hidroxilizină sînt glicozilate, comparativ cu 80—90% în membranele bazale renale. O altă deosebire esenţială o constituie existenţa doar a galactozei legată de hidroxilizină în colagenul peretelui arterial şi a dizaharidului galactoză-glucoză în colagenul din membranele bazale. Macromolecula de colagen ce conţine doar galactoză legată de hidroxilizină agregă rapid spre a forma fibrile şi fibre; dimpotrivă, macromolecula de colagen în care predomină dizaharidul galactoză-glucoză agregă greu şi incomplet. Legătura galactozei la hidroxilizină este β-glucozidică, susceptibilă la glucozidaze; legătura dizaharidului galactoză-glucoză este de tip 1-2-0-glucozidică, rezistentă la cele mai multe dintre glucozidaze.

b. SINTEZA

Principala particularitate a sintezei colagenului o constituie neincluderea hidroxiprolinei şi hidroxilizinei libere în lanţul polipeptidic alcătuit din amino acizii activaţi de către ARN-ul de transfer. Sînt încorporate numai prolina şi lizina stabilizate în prealabil prin legături peptidice, un anumit număr dintre aceşti amino acizi suferind apoi un proces de hidroxilare din care rezultă hidroxiprolina şi hidroxilizina. Dacă există inhibitori ai procesului de hidroxilare rezultă un lanţ polipeptidic asemănător proteinelor obişnuite, fără hidroxiprolină şi hidroxilizină.

S-a sugerat existenţa a cinci gene diferite pentru sinteza lanţului polipeptidic al macromoleculei de colagen. O moleculă de ARN mesager ar fi legată de 6—8 ribozomi, conţinînd informaţia genetică pentru un lanţ polipeptidic incluzînd 15—300 acizi aminaţi. Există şi posibilitatea ca o tripletă nucleotidică să codifice pentru fiecare amino acid. Deoarece lanţul α include aproximativ 1 000 reziduuri de amino acizi ar fi necesar, teoretic, un strand mesager conţinînd aproximativ 3 000 de nucleotizi. La microscopul electronic apar agregate ribozomale sau polizomi, incluzînd 30—35 ribozomi apţi a sintetiza un lanţ α. Un astfel de polizom cu 100 de ribozomi ar fi capabil să codifice informaţia pentru sinteza întregei macromolecule cu cele trei lanţuri constitutive.

Procesul de agregare ribozomală adecvat sintezei macromoleculei de colagen induce modificări ultrastructurale caracteristice în celulele musculare din peretele arterial. Aspectul cel mai des întîlnit la microscopul electronic este formarea unor rozete de ribozomi, sau aşezarea ribozomilor în spiţă de roată sau în rînduri suprapuse. S-a sugerat că dispunerea ribozomilor în două rînduri ar indica elaborarea a două tipuri diferite de lanţuri α, sau două tipuri diferite de proteine în general. Aceste agregate ribozomale sînt stabilizate structural de ARN-ul mesager şi în ultima instanţă de însuşi lanţul polipeptidic care ia naştere.

Mecanismul hidroxilării prolinei şi lizinei este în parte independent de cel al formării lanţului polipeptidic. Principala cale de hidroxilare este realizată prin activitatea enzimatică a *colagen prolin hidroxilazei*. Hidroxilarea are loc numai după ce lanţul polipeptidic a fost sintetizat, dar probabil înainte ca acest lanţ să fie eliberat de pe scheletul ribozomal şi în mod sigur înainte de a fi integrat în triplul helix. Procesul de hidroxilare implică prezenţa oxigenului, acidului ascorbic, fierului feros, precum şi a α-cetoglutaratului. Secvenţa minimă de amino acizi necesară pentru acţiunea colagen prolin hidroxilazei este tripleta conţinînd glicină, prolină şi amino acidul X. Hidroxilarea reziduului prolină în această secvenţă este influenţată de mai mulţi factori incluzînd: lungimea lanţului substratului, natura amino acidului din poziţia X, a tripletei ce va fi hidroxilată etc. Conformaţia tripletei poate preveni hidroxilarea, ca şi absenţa oxigenului şi a acidului ascorbic. Cînd există condiţii locale ca hidroxilarea să se producă, are loc reacţia:

peptidilprolină ——→ (*colagen prolin hidroxilază*) ——→ peptidilhidroxiprolină.

În cursul acestei reacţii enzimatice, secvenţele glicină — prolină — prolină ale substratului sînt stoichiometric convertite în secvenţe glicină — prolină — hidroxiprolină, caracteristice macromoleculei în colagen. Se susţine că un sin-

Scanned with OKEN Scanner

gur tip de enzimă ar hidroxila atît prolina cît şi lizina, principalul factor care dirijează cataliza fiind secvenţa amino acizilor în lanţul polipeptidic care serveşte ca substrat. Secvenţa minimă necesară pentru ca un peptid să fie folosit ca substrat de *colagen lizil hidroxilaza* pare a fi X — lizină — glicină sau serină. Interacţiunea este influenţată de lungimea lanţului polipeptidic, natura amino acizilor în poziţia X, a tripletei de hidroxilat, precum şi de natura amino acizilor din tripletele adiacente. În esenţă reacţia ar fi următoarea:

peptidillizină ——→ (*colagen lizil hidroxilază*) —→ peptidilhidroxilizină.

Creşterea activităţii colagen prolin hidroxilazei în peretele arterial este considerată ca reflectînd o reacţie reparatoare apărută în urma unei agresiuni. Dacă agresiunea este de lungă durată se creează condiţii favorabile dezvoltării plăcilor fibroase (FULLER şi LANGNER 1970). Principalul mecanism de acţiune al agenţilor agresivi par a fi descărcările de catecolamine (OOSHIMA şi col. 1974). Cantitatea de colagen sintetizată a apărut, în anumite lucrări experimentale, strîns corelată cu gradul hipertensiunii arteriale, ea scăzînd odată cu diminuarea prin rezerpină a valorilor tensiunii (SPECTOR şi col. 1976). Hipercolesterolemia potenţează de asemenea activitatea colagen prolin hidroxilazei (RÖNNEMAA şi col. 1975).

TABELUL IX

Studiu comparativ al ratei de sinteză a colagenului în arterele de cîine ţinut la diete normale şi la diete bogate în colesterol (după McCULLAGH şi ERHART 1974, cu permisiunea Editurii Associated Scientific Publishers-Elsevier, Amsterdam)

Artere investigate	Lot ţinut la dietă normală	Lot ţinut la dietă bogată în colesterol	
		zone fără leziuni	zone cu leziuni
RATA DE SINTEZĂ: ng/g ţesut/4 ore			
Artere carotide	215±74	185±237	absente
Aorta toracică	273±40	83±56	absente
Aorta abdominală	176±52	187±98	977±95
Arterele iliacă externă şi femurală	97±42	186±41	1954±821
Arterele coronare	118±44	nelucrate	571±138

Date obţinute la cîini sînt prezentate în *tabelul IX*. La porci, diete conţinînd 3% colesterol, administrate timp de 50 de zile, au produs o intensificare cu peste 40% a activităţii colagen prolin hidroxilazei în aorta toracică şi cu 70% în cea abdominală. Dacă s-a mărit la 6% cantitatea de colesterol din dietă au apărut plăci fibroase, creşterea activităţii colagen prolin hidroxilazei depăşind de peste patru ori pe cea normală. Pe de altă parte, la un lot de animale ţinut la regim standard, cu cantităţi foarte mici de lipide, dar căruia i s-a injectat adrenalină, s-a obţinut aceeaşi creştere de peste patru ori faţă de normal a activităţii colagen prolin hidroxilazei ca şi după diete foarte bogate în colesterol (FULLER şi col. 1972). La iepurii hrăniţi cu diete conţinînd 2% colesterol creşte semnificativ activitatea colagen prolin hidroxilazei la 8 zile de la începutul experimentului dar nu se formează plăci fibroase iar acumulările lipidice nu au componentă colagenică importantă. Aceasta ar sugera că acumulările de colagen în leziunile experimentale bogate în lipide reprezintă un proces secundar indus de aceste acumulări (LANGNER şi MODRAK 1976). Tot la iepuri ţinuţi la regim standard se pot produce plăci fibroase dacă se injectează adrenalină şi tiroxină timp de 3–4 săptămîni, rezultînd o creştere de peste patru ori a activităţii colagen prolin hidroxilazei (FULLER şi col. 1976).

Revenind la sinteza macromoleculei de colagen, menționăm un proces important ce urmează hidroxilării prolinei și lizinei și anume: *glicozilarea reziduurilor de hidroxilizină*. S-au sugerat următoarele modificări secvențiale (BUTLER și CUNNINGHAM 1966):

glicină — metionină — *lizină* — glicină — histidină — arginină — etc.;

glicină — metionină — *hidroxilizină* — glicină — histidină — arginină — etc.;

glicină — metionină — *hidroxilizină* — (*glucoză* — *galactoză*) — glicină — histidină — arginină — etc.

Deoarece toate aceste secvențe conțin arginină în poziția a treia a tripletei de amino acizi ce urmează hidroxilizinei glicozilate s-ar putea sugera că prezența sau absența acestui amino acid determină hidroxilarea și glicozilarea lizinei (GRANT și PROCKOP 1972). În plus, prezența în acest glicopeptid a metioninei, ce există în cantități relativ mici în macromolecula de colagen sugerează că și acest reziduu poate exercita o anumită specificitate stereochimică în procesul de glicozilare. Atașarea moleculei de galactoză sau glucoză pe reziduul de hidroxilizină este efectuată de enzime denumite uridin difosfat galactozil transferaza și uridin difosfat glucozil transferaza. Ambele enzime par a fi capabile să „recunoască" dintre diferitele reziduuri de hidroxilizină prezente în lanțul α, cele care vor fi glicozilate. Această „recunoaștere" pare a fi influențată în primul rînd de amino acizii din tripleta ce urmează hidroxilizinei. În peretele arterial, colagenul conține mai ales hidroxilizină legată de galactoză și în măsură foarte mică de dizaharidul galactoză — glucoză. După cum am mai menționat, prezența acestui dizaharid în macromolecula de colagen ar împiedica hidroxilizina să formeze legături intermoleculare de tip bază Schiff, diminuînd astfel capacitatea de agregare în fibre a macromoleculelor (ROBERT L. și ROBERT 1967). Această blocadă sterică s-ar datora apariției unei „proeminențe" în zona dizaharidului ce limitează posibilitatea formării legăturilor intermoleculare.

Cu procesul de glicozilare se încheie prima etapă importantă în sinteza macromoleculei de colagen. Această etapă, incluzînd procese de o mare complexitate, durează, în anumite condiții experimentale, mai puțin de șase minute (VUUST și PIEZ 1972). Ea include, în linii mari, formarea lanțurilor » prin adăugarea secvențială a amino acizilor, plecîndu-se de la capătul amino spre cel terminal carboxilic sub forma unui singur mesaj genetic; asamblarea subunităților într-un lanț polipeptidic care este hidroxilat și glicolizat. Se pare că lanțurile α_1 și α_2 sînt elaborate separat și nu secvențial și că rata sintezei lor este reglată prin mecanisme *feedback* negative, controlate în parte de enzimele ce catalizează hidroxilarea și glicozilarea. Dacă hidroxilarea nu s-a efectuat în condiții adecvate va rezulta o macromoleculă de colagen deficientă în hidroxiprolină și hidroxilizină, cu o stabilitate structurală redusă. Acest tip de colagen nu conferă peretelui arterial o rezistență adecvată la stresurile hemodinamice și mai ales nu asigură protecția necesară componentelor elastice. S-a sugerat, pe baza unor observații experimentale, că apariția leziunilor de ateroscleroză ar fi favorizată de prezența acestui colagen sărac în hidroxiprolină (EBEL 1962).

Scanned with OKEN Scanner

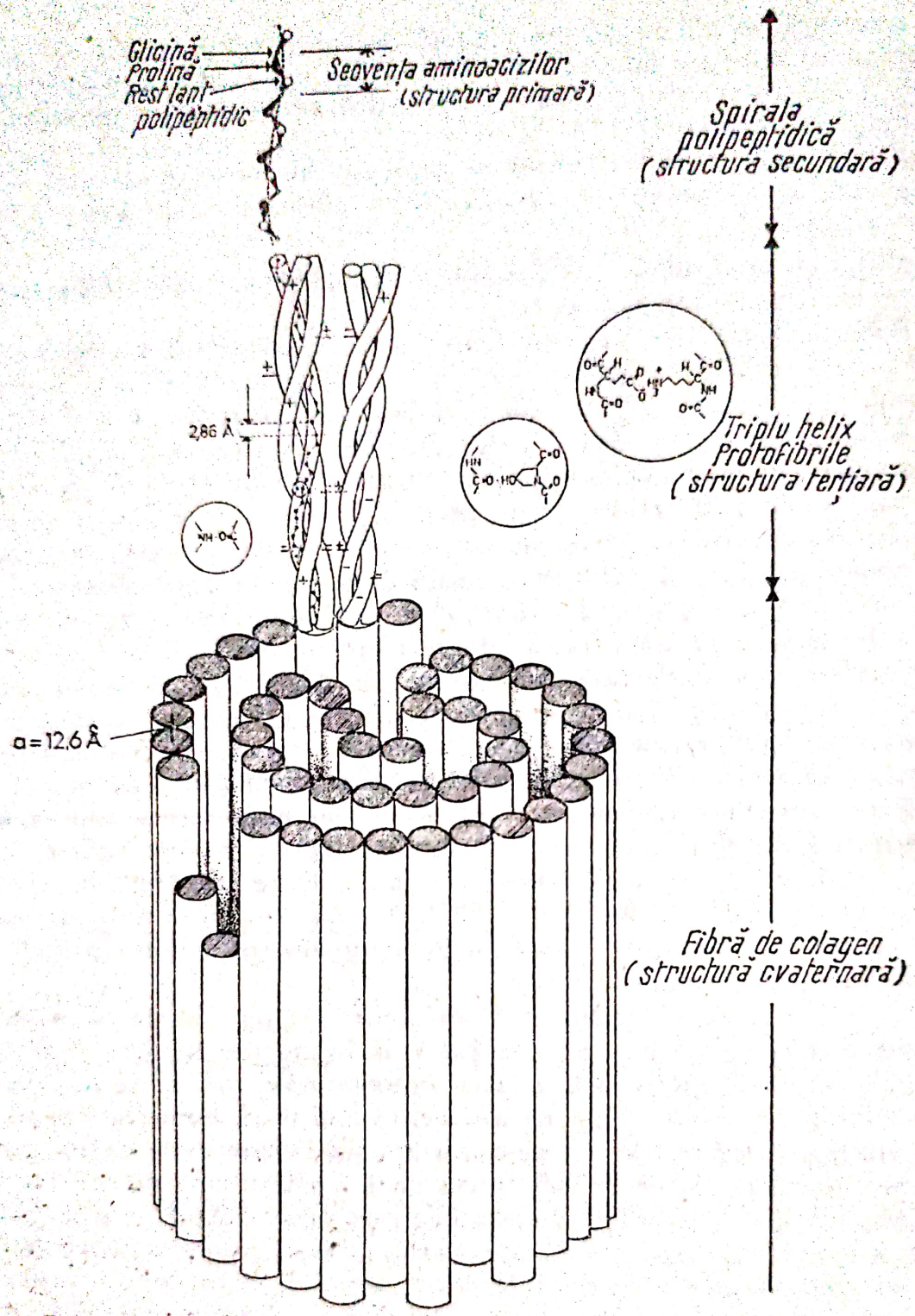


Fig. 40 Prezentare schematică a structurii fibrelor de colagen. Prin bunăvoința prof. Th. Nemetschek.

c. FIBRILOGENEZA

Macromoleculele de colagen formate în polizomi sau agregate ribozomale sînt eliminate în cisternele reticulului endoplasmic, apărînd la microscopul electronic ca un material amorf intracelular. Din aceste cisterne ar fi transportate, prin intermediul unor vezicule ale aparatului Golgi, la suprafața

celulei şi „descărcate" în spaţiul extracelular. Aceste macromolecule ce vor da naştere fibrilelor şi fibrelor sînt denumite *procolagen*. Denumirea se referă la o macromoleculă care prezintă intacte capetele terminale ale lanţurilor triplului helix. Această „formă de transport" a colagenului pierde în spaţiul extracelular capetele terminale ale lanţurilor, rămînînd doar fragmente de aproximativ 20 de amino acizi, denumite telopeptide. Eliminarea apendicilor terminali este efectuată de enzima *procolagen peptidaza* care degradează aproximativ 200 de reziduuri de amino acizi în prelungirea fiecărui lanţ α, rezultînd reducerea greutăţii moleculare a întregii macromolecule de la 360 000 la aproximativ 285 000. După ce a pierdut 75 000 din greutatea moleculară iniţială, macromolecula de *procolagen* devine *tropocolagen*, avînd numai 20 de reziduuri de amino acizi la capetele terminale ale lanţurilor în loc de peste 200. Dacă anumite condiţii locale împiedică clivarea propeptidelor, de exemplu deficienţa funcţională a procolagen peptidazei, rămîne o macromoleculă nealterată dar incapabilă a agrega în fibrile cu periodicitatea de 640 Å. Aceste macromolecule de procolagen ar fi capabile să formeze doar agregate „fibrous long spacing", cu periodicitate de 2 800 Å, mod de asamblare extrem de rar întîlnit în peretele arterial şi fără semnificaţie în patogenia ateroscleroze. În esenţă conversiunea procolagenului în tropocolagen, ca urmare a degradării propeptidelor aminteşte de conversiunea fibrinogenului în fibrină apărută în urma eliminării fibrinopeptidelor; acest proces va fi descris amănunţit în capitolul următor.

După transformarea procolagenului în tropocolagen sub acţiunea procolagen peptidazei începe agregarea macromoleculelor. Prima structură detectabilă la microscopul electronic a fost denumită microfibrilă şi rezultă din agregarea lineară a macromoleculelor de tropocolagen. Agregarea are loc cel mai frecvent în jurul membranei bazale a celulei musculare netede care a sintetizat macromoleculele de colagen. Microfibrilele au un diametru de 3—10 nm şi o periodicitate puţin evidentă. Din agregarea lor ar rezulta fibrilele cu periodicitatea caracteristică de 640 Å, indusă prin suprapunerea cu 1/4 a macromoleculelor în cursul agregării lor laterale. Această suprapunere „în registru" dă naştere unor zone mai luminoase, alternînd cu altele mai întunecate. Din agregarea cap la cap şi lateral a fibrilelor iau naştere fibrele. În *fig. 40* prezentăm o sinteză a întregii evoluţii a macromoleculei de colagen, de la lanţul polipeptidic sintetizat pe ribozomi, la structurile vizibile sub formă de fibre.

Există o tendinţă spontană a macromoleculelor de colagen de a forma structuri fibroase şi *in vitro*. Colagenul extras din peretele arterial, prin răcire la 4°C dă naştere unei soluţii conţinînd macromolecule izolate. Dacă soluţia este încălzită la 37°C aceste macromolecule agregă în mod spontan în fibrile şi fibre de grosimi variind între 7—200 nm. Dacă mediul de agregare conţine clorură de sodiu dispoziţia macromoleculelor are un caracter mai ordonat. Dacă se adaugă condroitin sulfaţi, fibrele apar mai groase, iar în prezenţa heparinei fibrilogeneza este inhibată sau se formează doar fibre extrem de subţiri. Se atribuie şi mucopolizaharidelor din peretele arterial numeroase interacţiuni cu colagenul, de la stabilizarea triplului helix, la orientarea fibrelor ce ar lua naştere de-a lungul unor „machete" mucopolizaharidice. Influenţa diferitelor mucopolizaharide asupra fibrilogenezei colagene din peretele arterial s-ar manifesta în următoarea ordine descrescîndă: condroitin 6-sulfat > dermatan sulfat > acid hialuronic > keratan sulfat > condro-

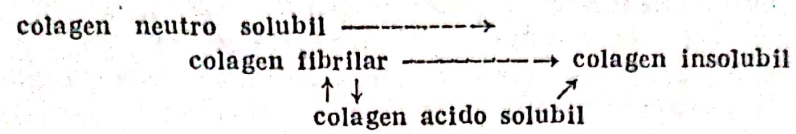
itin 4-sulfat (FRANZBLAU şi col. 1976). Glicoproteinele ar interveni de asemenea în fibrilogeneza colagenă, eliminarea acidului sialic cu sialidază prevenind agregarea fibrilară a macromoleculelor de tropocolagen prezente în spaţiile extracelulare.

d. STABILIZAREA FIBRELOR

Rolul cel mai important în stabilizarea macromoleculelor agregate în fibrile şi fibre este jucat de reziduurile de lizină, proces pînă la un anumit punct asemănător celui descris la ţesutul elastic. Reziduurile de lizină care participă la stabilizarea fibrelor sînt situate în zona nehelicoidală a macromoleculei de colagen, în grupul celor aproximativ 20 de amino acizi ce rămîn în telopeptide după acţiunea procolagen peptidazei. În aceste telopeptide ar exista o adevărată familie de aldehide şi de intermediari aldehidici rezultaţi din oxidarea lizinei. Pentru a se forma interconexiuni de tip bază Schiff devin disponibile 5 reziduuri de lizină şi 2 de hidroxilizină de-a lungul unui lanţ α, dar sînt implicate cel mai frecvent doar un reziduu de lizină şi un reziduu de hidroxilizină. Aldehidele produse prin dezaminarea oxidativă a lizinei pot da naştere la legături intermoleculare fie printr-o condensare de tip aldol cu un al doilea reziduu alizil, fie, aşa cum am mai menţionat, prin formare de baze Schiff. În producerea acestor legături rolul cel mai important pare a fi jucat de δ-semialdehida ce rezultă din dezaminarea oxidativă a carbonului ε al lizinei. Oxidarea grupului amino al lizinei este un proces enzimatic efectuat de lizil oxidază, enzimă inhibată de chelatori ai cuprului şi de latirogeni. Activitatea ei este redusă dacă acţionează pe lanţuri α izolate şi intensă pe lanţuri incluse în macromolecule şi fibre. Extragerea colagenului neutro-solubil din artere la 4°C şi reîncălzirea lui la 37°C este urmată de reprecipitarea fibrilară a macromoleculelor şi de conversiunea anumitor reziduuri de lizină în alizine, în special δ-semialdehida acidului aminoadipic. Această dezaminare oxidativă se intensifică dacă se adaugă la mediul de incubaţie un extract de ţesut bogat în lizil oxidaze şi diminuă foarte mult dacă mediul conţine latirogeni şi penicilamină. Atît *in vivo* cît şi *in vitro*, lizil oxidaza pare a avea o afinitate specială pentru reziduurile de lizină dispuse lîngă regiunea N-terminală a lanţului α. Dezaminarea oxidativă produsă de această enzimă este foarte rapidă şi poate apărea înainte ca macromolecula de colagen să fie aşezată în poziţia finală în fibră.

În ţesutul elastic, dezaminarea lizinei nu reprezintă decît o etapă preliminară în formarea desmozinelor şi izodesmozinelor; în fibra de colagen aceşti acizi aminaţi nu apar, existînd în plus şi o rată diferită de conversiune a reziduurilor lizină şi hidroxilizină. Astfel, lizil oxidaza converteşte în macromolecula de elastină 5—16 reziduuri de lizină din 10^3 amino acizi iar în macromolecula de colagen doar 1 reziduu din 10^3 amino acizi (MILLER şi col. 1967). Condensarea a trei astfel de reziduuri oxidate cu un reziduu lizină neoxidat pentru a forma legături ciclice reprezintă o particularitate a fibrelor elastice pe cale de stabilizare şi apare ca un proces neenzimatic. În colagen, formarea aldehidelor din lizină constituie etapa unică a interconectării ce rezultă din legarea unei aldehide de pe un lanţ α şi a unei lizine de pe alt lanţ α. *In vitro*, colagenul din aortă sau din alte artere pus în contact cu lizil oxidaza formează dimeri ai lanţurilor α_1 şi α_2. Aceşti dimeri β_{1-2} au o legătură transversală similară cu cea a colagenului în stare nativă (PINNEL şi

MARTIN 1968). Dacă se continuă incubarea cu lizil oxidază se poate constata cum o parte a colagenului devine insolubil. În consecinţă, variatele grade de interconectare permit colagenului din fibre să fie extras în soluţii neutre, alcaline, acide sau să rămînă neextractibil. În funcţie de stabilitatea legăturilor intermoleculare s-au individualizat ca entităţi chimice şi nu biologice, colagenul neutro solubil, citrat solubil, acid acetic solubil şi insolubil. Utilizarea radioizotopilor a permis să se constate următoarele interrelaţii ale acestor forme chimice de colagen (KLEIN şi col. 1969):



Aşa cum am mai menţionat, diferenţele nu rezultă din compoziţia chimică diferită a macromoleculei, ci din gradul de interconectare. Cînd acest grad atinge nivelul cel mai înalt, colagenul din fibre devine insolubil la toate extracţiile chimice, precum şi la digestia cu pronază şi colagenază. Colagenul acido solubil prezintă un nivel mediu de interconectare, fiind degradabil în acid acetic, precum şi după incubaţie cu colagenază. Colagenul acido solubil, ca şi cel insolubil, se găseşte numai sub formă fibrilară; dimpotrivă, cel neutro solubil există atît sub formă de fibre cît şi sub formă de soluţii sau coacervate de macromolecule, incluzînd colagenul cel mai recent sintetizat.

Datele menţionate au doar o valoare orientativă întrucît colagenul matur din peretele arterial nu este degradat într-un singur mediu de extracţie, ceea ce sugerează prezenţa unor conexiuni intermoleculare mai complexe decît cele legate de prezenţa reziduurilor lizină şi hidroxilizină. Într-un lanţ α, conţinînd aproximativ 1 000 amino acizi se găsesc următorii radicali potenţial apţi să formeze legături intermoleculare: grupe carboxilice ale acizilor glutamic şi aspartic ce pot da naştere la şase legături de tip ester; grupările N-acetil situate la distanţă de zona ε-amino a lizinei; grupări ce pot da naştere la zece legături γ-glutamil peptidice; o grupare aptă a forma o legătură ε-lizil amidă; una sau două grupări dizaharidice legate glicozidic de hidroxilizină (SCHUBERT şi HAMERMAN 1968). O importanţă deosebită ar avea legăturile de tip ester, a căror existenţă a fost sugerată de degradarea indusă de hidroxilamină sau de hidrazină. Aceste substanţe desfac macromolecula de colagen în unităţi mici, cu greutate moleculară sub 20 000. Este însă greu de susţinut că aceşti agenţi nucleofili clivează în mod electiv numai legături de tip ester şi nu şi pe cele imidice sau de altă natură.

Cu înaintarea în vîrstă se constată o creştere progresivă a stabilizării structurale a fibrelor de colagen din peretele arterial (NEMETH-CSOKA şi SIMOR 1961). Colagenul cel mai stabil este prezent în plăcile fibroase din ateroscleroză, fiind rezistent la toate tipurile de extracţie chimică sau enzimatică.

3. INTERFERENŢE METABOLICE

a. HORMONII ŞI MEDIATORII CHIMICI

Hipofizectomia este urmată, la animalele mici de laborator, de o deficienţă în formarea legăturilor intermoleculare în fibrele de colagen (DEYL şi col. 1967). Administrarea *hormonului de creştere* stimulează formarea acestor

legături, ca și ACTH-ul, fiind afectate vasele de toate diametrele și rezultînd modificări de tip atero și arteriosclerotic (WEXLER și LUTMER 1975).

Hormonii tiroidieni inhibă formarea colagenului în peretele arterial, diminuînd capacitatea de adaptare a acestui perete la stresurile hemodinamice. Efectele inhibante sînt nete mai ales în perioada embrionară și fetală. La animalele cu hiperfuncția tiroidei se întîlnesc mult mai rar agregatele de ribozomi necesare sintezei macromoleculei de colagen, în comparație cu animalele cu o funcție normală a glandei. Interferența metabolică principală s-ar exercita asupra etapei hidroxilării prolinei (ROBERT A. M. și col. 1971), explicîndu-se astfel valorile scăzute ale hidroxiprolinei sanguine și urinare la animalele cu hipertiroidism, ca și cicatrizarea defectuoasă a plăgilor. Țesutul conjunctiv intimal ar reprezenta teritoriul arterial cel mai sensibil la acțiunea hormonilor tiroidieni și implicit cel în care blocarea sintezei hidroxiprolinei apare mai evidentă. În prezența unei hipertiroidii sînt potențate și efectele nocive exercitate de adrenalină asupra peretelui arterial (LORENZEN 1962 a, b).

Extractul de paratiroidă administrat la animale ținute la diete bogate în colesterol inhibă creșterea sintezei de colagen din peretele aortic indusă de dieta aterogenă (CUTRONEO și FULLER 1970).

Cortizonul și *hidrocortizonul* par a fi cei mai eficienți inhibitori ai sintezei colagenului în peretele arterial. Sub acțunea acestor hormoni nu este sintetizat ARN-ul specific pentru macromolecula de colagen, nu se formează complexul ARN-mesager — ARN-ribozomal, nu apar decît rudimente de agregate ribozomale în celula musculară. În plus se reduce și gradul de stabilitate structurală a fibrelor de colagen preexistente.

Catecolaminele și în special adrenalina măresc considerabil gradul de stabilitate al fibrelor de colagen ca urmare a potențării interconectărilor dintre macromolecule. Experimental, în prezența adrenalinei dispersia colagenului solubil indusă prin coborîrea temperaturii pînă la 4°C nu se mai produce, iar fibrele neoformate prezintă o rezistență crescută la extracții chimice și digestii enzimatice. S-a sugerat o participare directă a adrenalinei la formarea unor legături intermoleculare (GRANT și ALBURN 1965).

Hormonii ovarieni exercită acțiuni și de inhibare și de potențare a sintezei colagenului, influențînd în același timp și metabolismul mucopolizaharidelor acide din peretele arterial. S-a observat că la același tip de agresiune asupra endoteliului se produce o cicatrizare mai rapidă și mai eficace la animalele de sex feminin comparativ cu cele de sex masculin (LORENZEN și HEADINGS 1966). Această reparare adecvată include o sinteză mai mare de macromolecule de colagen, o neoformare fibrilară mai intensă și o adaptare mai eficientă a țesutului neoformat în microarhitectura intimei.

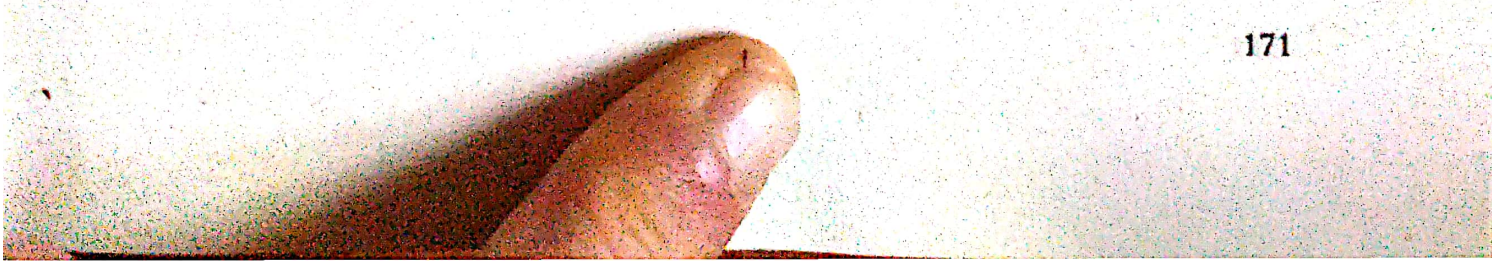
b. β-AMINOPROPIONITRILUL ȘI PENICILAMINA

Cu aproape trei decenii în urmă s-a constatat că administrarea experimentală a β-aminopropionitrilului (BAPN) produce o scădere considerabilă a rezistenței la tracțiune a peretelui aortic, asociată cu o creștere a solubilității colagenului (LEVENE și GROSS 1959). În timp ce la embrionul normal se putea extrage cu o soluție de clorură de sodiu 1 *M* 2—5% din colagenul aortei, la embrionul cu latirism cantitatea de colagen extractibilă creștea pînă la 80% (LEVENE 1961). Reprecipitat, acest colagen dădea naștere la fibrile cu periodicitate normală la microscopul electronic sugerînd că defectul nu

consta în alterarea macromoleculelor ci în modul lor de interconectare. S-a mai constatat, în latirism, o scădere a numărului fibrelor de colagen din media şi intima arterelor, contrastînd cu abundenţa de fibrile şi de microfibrile, reflectînd un defect de agregare. Administrarea de adrenalină la şobolanii normali ridică presiunea arterială pînă la valori ce se apropie de 50 mm Hg, pe cînd la animalele cu latirism aceste valori nu depăşesc 33 mm Hg (KOHN şi RIVERA VELEZ 1965), indicînd şi un defect de adaptare a peretelui arterial la stresurile hemodinamice. Agenţii latirogeni interferează formarea fibrelor de colagen prin: *a*) blocarea zonelor active de pe suprafaţa lizil oxidazei, enzima responsabilă de iniţierea procesului de formare a legăturilor intermoleculare atît în fibrele elastice cît şi în cele de colagen; *b*) formarea unei baze Schiff între amina primară a compusului latirogen şi grupările aldehidice din lanţurile polipeptidice ale macromoleculei de colagen, prevenindu-se astfel condensarea lor ulterioară şi deci formarea legăturilor covalente; *c*) convertirea BAPN-ului de către amino oxidaze în cianoacetaldehidă şi apoi legarea ei ca bază Schiff de lanţurile laterale ale reziduurilor de lizină şi hidroxilizină, rezultînd blocarea substratului necesar acţiunii enzimatice şi formării legăturilor intermoleculare; *d*) reducerea ritmului interconectării în fibrele pe cale de maturizare.

S-a demonstrat că sub acţiunea BAPN-ului animale rezistente la ateroscleroza experimentală pot deveni susceptibile la apariţia leziunilor (PAGE şi BENDITT 1972). Cele mai numeroase observaţii au fost efectuate asupra şobolanilor la care un conţinut ridicat de colesterol în dietă nu produce formarea leziunilor, dar ele apar dacă se asociază şi latirismul. Se menţionează că aceste leziuni ale animalelor cu latirism sînt mult mai asemănătoare, la examenul microscopic, cu cele din ateroscleroza umană, în comparaţie cu leziunile induse prin blocarea tiroidei sau variate alte condiţii experimentale (JULIAN şi col. 1976). Modificările produse de agenţii latirogeni sînt descrise şi ca o fază preaterosclerotică, depunerile de lipide apărînd cu predilecţie în zonele unde peretele arterial a fost mai sever alterat sub acţiunea BAPN-ului. Dacă se asociază piridinol carbamatul cu BAPN, leziunile de ateroscleroză nu mai apar, indiferent de durata administrării dietei bogate în colesterol (BOUISSOU şi col. 1978).

Penicilamina produce o acumulare de colagen amorf în peretele arterial precum şi prezenţa a numeroase lanţuri α izolate în lichidul de extracţie, sugerînd un defect de interconectare a macromoleculelor şi a lanţurilor ce alcătuiesc triplul helix. Inhibarea formării legăturilor intra şi intermoleculare s-ar datora blocării grupărilor aldehidice produse prin dezaminarea oxidativă a lizinei şi hidroxilizinei. În plus, penicilamina este capabilă să desfacă legături preexistente intermoleculare de tip bază Schiff, carbonul imino al bazei Schiff fiind sensibil la atacul nucleofilic al grupării mercapto a penicilaminei; se pot produce, de asemenea şi reacţii de schimb cu grupul α-amino. Ca urmare a acestei acţiuni particulare, rata de sinteză a macromoleculei de colagen este puţin afectată dar se produce o blocadă a formării de legături intermoleculare, numărul fibrelor de colagen insolubile devenind din ce în ce mai redus, atît în intima cît şi în media arterei. În consecinţă în peretele arterial al animalelor supuse acţiunii penicilaminei apar fibre de colagen ce nu opun rezistenţă la tracţiune, rezultînd întinderea maximă a elementelor elastice, ruptura lor, urmată de fisurarea peretelui şi tendinţă la formarea de anevrisme.



Scanned with OKEN Scanner

Observaţiile experimentale privind capacitatea latirogenilor şi penicilaminei de a diminua rata neoformării fibrelor de colagen în peretele arterial au fost folosite ca punct de plecare pentru încercări de a se inhiba apariţia plăcilor fibroase aterosclerotice prin blocarea sintezei macromoleculei de colagen sau a insolubilizării fibrelor.

c. HOMOCISTEINA

Asocierea aterosclerozei cu homocisteinemia produsă de o deficienţă a cistationin sintetazei (EC 4.2.1.13) a sugerat implicarea acestui defect metabolic în patogenia bolii prin intermediul afectării sintezei colagenului din peretele arterial. Leziunile ţesutului conjunctiv la subiecţii cu homocistinurie includ *ectopia lentis*, dezorganizarea fibrelor de colagen din artere, modificări scheletice etc. În toate organele şi ţesuturile, numărul de legături intermoleculare din fibrele de colagen sînt considerabil reduse, aceste fibre devenind rapid extractibile în soluţii ce în mod normal nu le degradează. Blocada metabolică ar fi localizată tot la grupările aldehidice ale lizinei şi hidroxilizinei, mecanismul implicat fiind, pînă la un anumit punct, similar cu cel al penicilaminei. S-ar forma derivaţi tetrahidrotiazinici între homocisteină şi aldehide, inhibîndu-se astfel apariţia legăturilor intermoleculare (JACKSON 1973). Pe de altă parte, pacienţii cu homocistinurie prezintă o intensificare a sintezei de colagen şi de hidroxilare a prolinei în hidroxiprolină, ambele atingînd niveluri similare celor din perioada embrionară. Această potenţare a sintezei a fost corelată cu apariţia mai rapidă şi în număr mai mare a plăcilor fibroase la pacienţii cu homocistinurie. La iepuri, după administrare de homocisteină s-au dezvoltat numeroase plăci fibroase acoperite de o capsulă groasă de colagen, localizarea lor predominantă fiind zonele de bifurcaţii şi de emergenţe. Animalele la care s-a administrat parenteral acid homocisteic au mai prezentat şi alterări severe ale ramurilor mici intramiocardice ale arterelor coronare, cu necroză fibrinoidă şi îngroşări intimale severe. Aspecte similare au fost menţionate la copiii cu deficienţă de homocisteină metil transferază (McCULLY 1969, 1970). Un aspect particular al leziunilor produse atît experimental cît şi apărute spontan în condiţii de homocistinurie este prevalenţa fibrozei asupra acumulărilor lipidice, indiferent de bogăţia în colesterol a dietei. Anumite observaţii susţin că nu numai homocisteina ci şi alţi amino acizi sulfuraţi, cum ar fi metionina sau tiolactona, produc plăci fibroase în aortă şi în ramurile ei principale dacă sînt administraţi parenteral sau prin intermediul dietelor (McCULLY 1969, 1970, 1972). Administrarea parenterală a acestor amino acizi ar favoriza în plus şi formarea de tromboze asociate plăcilor fibroase.

d. SUBSTANŢE VARIA

Vitamina C este necesară agregării ribozomilor ce vor da naştere lanţurilor polipeptidice ale macromoleculei de colagen. De asemenea pare a fi indispensabilă menţinerii integrităţii structurale a fibrelor. Absenţa din alimen-

tație a acidului ascorbic este urmată de o diminuare a ratei de hidroxilare a prolinei și apariția unor fibre cu stabilitate strcturală deficitară. Acest tip de colagen apărut în cursul carențelor de vitamină C favorizează dezvoltarea mai rapidă a leziunilor de ateroscleroză experimentală. Se susține că numai aceste carențe ar fi capabile să inducă la cobai edem intimal, degradarea fibrelor elastice și de colagen din intimă și medie, apariția de celule spumoase în intima aortei și într-un stadiu final fibroza intimei. Modificările apar mai net și cu caracter mai sever în crosa aortei decît în segmentul abdominal (FUJINAMI și OKADO 1974). Administrarea de acid ascorbic în cantități adecvate diminuă susceptibilitatea la ateroscleroză și severitatea leziunilor preexistente (MIASNIKOV 1958).

Cuprul a devenit un subiect de importanță majoră în patogenia aterosclerozei datorită rolului jucat în reacțiile enzimatice implicate în interconectarea macromoleculelor de elastină și colagen. Aortele de păsări sau de mamifere ținute la diete sărace în cupru conțin o cantitate mai mare de colagen solubil în comparație cu loturile martor. Cantitatea totală de colagen neoformat nu este semnificativ afectată, dar se reduce stabilitatea structurală a fibrelor.

Anumite medicamente ce alterează membrana reticulului endoplasmic, de tipul colchicinei și vinblastinei, pot afecta activitatea prolil hidroxilazei, lizil hidroxilazei ca și a variate transferaze, rezultînd importante interferențe în sinteza și metabolismul colagenului.

4. DEGRADAREA FIBRELOR

Macromolecula de colagen inclusă în grosimea fibrelor devine inertă din punct de vedere metabolic. În plus, datorită rezistenței legăturilor intermoleculare, ea este greu de eliminat sub acțiunea enzimelor specifice și chiar extracțiilor chimice severe efectuate *in vitro*. De aceea se consideră leziunile de ateroscleroză cu o componentă fibroasă abundentă ca fiind ajunse în stadii ireversibile de evoluție. Date experimentale, angiografice și observații *post mortem* sugerează însă existența unui anumit grad de reversibilitate și a plăcilor fibroase. Aceste observații au o valoare deosebită din punct de vedere al posibilităților de prevenire primară a aterosclerozei, cercetările noastre demonstrînd că la copiii între 6—15 ani plăcile aterosclerotice sînt în exclusivitate de tip fibros (VELICAN D. și VELICAN 1978 b; VELICAN D. și VELICAN 1979). Modul cum vom putea interveni asupra fibrelor de colagen din placă, prin intermediul substanțelor ce desfac legături intermoleculare, a enzimelor de tip colagenazic eliberate din lizozomii celulelor musculare, a iradiațiilor etc. va putea fi mai clar anticipat în anii care vin. Menționăm că la pacienții tratați pentru hiperlipoproteinemii, mai ales de tipul II B și IV, s-au notat creșteri ale hidroxiprolinei în ser, degradarea colagenului avînd loc în special în peretele arterial (VOROBIEVA și col. 1976).

În condiții fiziologice, degradarea colagenului inclus sub formă de fibre în microarhitectura intimei, mediei și adventicei, implică intervenția unor enzime cu acțiune atît proteolitică, cît și glicolitică. Pe primul plan se situează *colagenazele;* ele clivează macromolecula în subunități cu greutate moleculară de 6 000, desfăcînd în mod specific legătura X-glicină, X fiind un amino acid nespecific. Ruperea acestei legături afectează stabilitatea triplului

Scanned with OKEN Scanner

helix, respectiv organizarea primară a macromoleculei de colagen. S-a estimat că aproximativ 3% din cantitatea totală de colagen prezentă la un moment dat în peretele arterial este în curs de degradare sub acțiunea colagenazelor (DRESDEN 1971). Capacitatea lor hidrolitică crește cu înaintarea în vîrstă și cu apariția leziunilor de ateroscleroză. Degradarea produsă de colagenaze este intensificată de stresurile hemodinamice și mai ales de apariția hipertensiunii arteriale (UEDA și col. 1967). Ar exista în artere și inhibitori naturali ai colagenazelor, avînd o greutate moleculară de aproximativ 11 000 și structură de proteine cationice (KUETNER și col. 1976).

Pronaza acționează asupra telopeptidelor situate la capetele terminale ale lanțurilor polipeptidice, degradînd zonele polare ale macromoleculei de colagen, fără a modifica structura triplului helix. Tot asupra telopeptidelor își exercită acțiunea pepsina, tripsina și alte proteaze nespecifice, precum și variate catepsine. Acestea din urmă degradează în special macromoleculele de colagen cu defecte de hidroxilare și glucozilare.

Datorită prezenței glucidelor în constituția macromoleculei de colagen și a participării lor la legăturile intermoleculare, s-au obținut degradări ale fibrelor sub acțiunea unor glicozidaze. Cercetările noastre au evidențiat creșterea susceptibilității colagenului la digestia cu colagenază după incubare prealabilă cu sialidază (VELICAN C. și VELICAN 1969, 1971, 1972). În aortă,

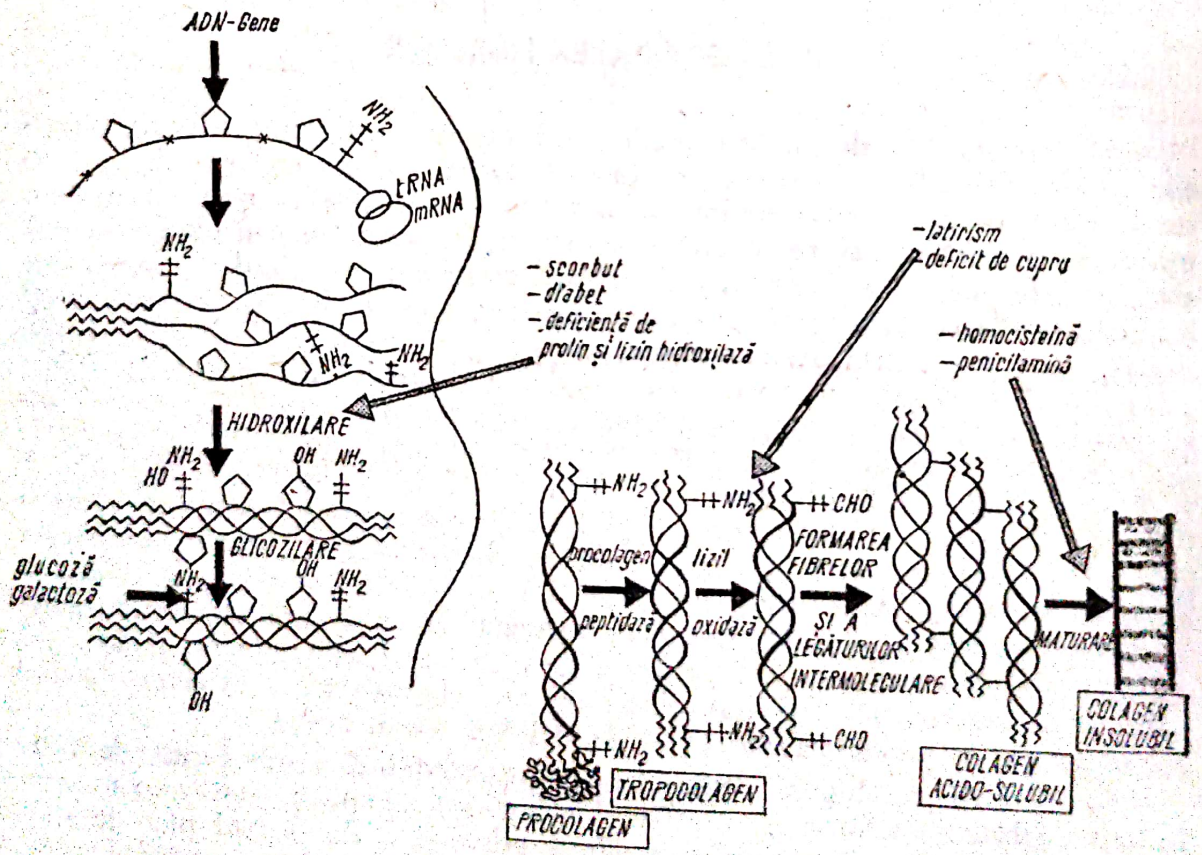


Fig. 41 Principalele etape ale sintezei, agregării și maturării macromoleculei de colagen, precum și a principalelor puncte de interferență metabolică (după BAILEY, ROBINS și BALIAN 1974, cu permisiunea Editurii Macmillan Journals Limited, Londra).

teritoriile în care am detectat fibrele de colagen cu susceptibilitate maximă la degradare corespund, din punct de vedere topografic, cu teritoriile cunoscute a prezenta susceptibilitatea maximă la apariţia plăcilor aterosclerotice (VELICAN C. 1969 a, b).

Fig. 41 prezintă, schematizat, principalele etape ale biosintezei, agregării şi maturării macromoleculelor de colagen, precum şi principalii factori de interferenţă metabolică cu indicarea locului unde se produce această interferenţă.

Scanned with OKEN Scanner

IV. ROLUL ATEROGEN POTENȚIAL AL COMPONENTELOR SANGUINE

A. LIPOPROTEINELE

1. DATE INTRODUCTIVE

Începînd din al cincilea deceniu al veacului nostru, macromoleculele de lipoproteine au fost tot mai frecvent și mai adînc implicate în patogenia aterosclerozei (GOFMAN și col. 1950, 1954), formulîndu-se și o nouă versiune a teoriei filtrării lipidelor (PAGE 1954). Conform acestei versiuni, lipidele sînt transportate în grosimea peretelui arterial prin intermediul lipoproteinelor, iar acumulările locale de colesterol ar rezulta din degradarea acestor macromolecule.

Prima dovadă importantă în acest sens a fost furnizată de cercetări în care s-au izolat β-lipoproteine de la muribunzi, fiind apoi reintroduse în același organism după marcare cu radioizotopi. Autohistoradiografiile efectuate *post mortem* au evidențiat prezența lipoproteinelor marcate în variate structuri ale peretelui arterial. În fig. 37 a fost prezentată această reținere la nivelul limitantei elastice interne, numeroase date asupra acestui proces fiind menționate în capitolul anterior. Pentru evidențierea pătrunderii lipoproteinelor în peretele arterial s-au mai folosit și tehnici imunochimice (SMITH și col. 1968; SMITH și SLATER 1973) și imunofluorescente (HOFF și col. 1975; HOFF 1976).

În sprijinul vehiculării colesterolului plasmatic în intimele arterelor de către β-lipoproteine pledează și observațiile comparative între nivelul colesterolului total din lipoproteine și cel din lipidele peretelui arterial. Analize efectuate la aceiași subiecți înainte și după *exitus* au demonstrat existența anumitor corelații; pentru fiecare creștere a colesterolului seric cu 100 mg/100 ml, colesterolul din intima aortei își mărește valorile cu 1,8 mg/100 mg țesut uscat (SMITH și SLATER 1972 c). Existența unui echilibru între valorile colesterolului din ser și cel din intima aortei ar explica creșterea lineară a acumulărilor în peretele arterial concomitent cu mărirea valorilor colesterolului în sîngele circulant. Astfel, la subiecți cu o colesterolemie de 55 mg/100 ml, intima aortei conținea numai 0,7 mg colesterol/100 mg țesut uscat,

iar la subiecți cu o colesterolemie de 426 mg/100 ml se acumulaseră în intima arterei 8,3 mg/100 mg țesut uscat. Aceste rezultate ar sugera că în mod constant trece prin intima aortei o anumită cantitate de macromolecule de β-lipoproteine, din care o parte se îndreaptă spre limfaticele adventiceale, iar o altă parte sînt sechestrate în peretele arterial unde eliberează colesterolul constitutiv. Sechestrarea crește progresiv cu vîrsta, reflectată printr-o mărire cu aproximativ 0,2 mg colesterol/100 mg țesut uscat cu fiecare deceniu de viață, în condițiile absenței unei hipercolesterolemii prelungite, sau a hipertensiunii arteriale. Un alt fapt de observație care merită să rețină atenția este constanța raportului colesterol liber/fosfolipide în arterele fără leziuni aterosclerotice; el își păstrează o valoare de $0{,}45 \pm 0{,}11$ între 1 și 60 de ani (SMITH și SMITH 1976). Aceasta ar constitui o dovadă adițională că reținerea colesterolului și fosfolipidelor este cuplată, legată de pătrunderea și degradarea macromoleculelor de lipoproteine în intima și media arterelor. Tot în sprijinul vehiculării colesterolului plasmatic în intima arterelor de către β-lipoproteine pledează și observația că în aortele de copii, ca și în miocard și mușchi scheletic, fosfolipidele reprezintă componentul lipidic major, iar esterii de colesterol componentul minor. După vîrsta de 5 ani, valorile esterilor de colesterol încep să crească (DAY și WAHLQUIST 1970), creștere ce devine semnificativă între 15 și 20 de ani; după vîrsta de 40 de ani raportul menționat se schimbă, esterii de colesterol devenind din punct de vedere cantitativ componentul lipidic principal al intimelor îngroșate din arterele mari și mijlocii (SMITH și SMITH 1976). Concomitent cu această schimbare cantitativă are loc și una de ordin calitativ, reducîndu-se progresiv cantitatea de colesterol esterificat cu acid linoleic și crescînd progresiv cea esterificată cu acid oleic. Esterii de colesterol bogați în acid linoleic sînt prezenți în particulele lipidice cu topografie perifibrilară și provin din degradarea β-lipoproteinelor; esterii de colesterol bogați în acid oleic au o localizare intracelulară și provin din sinteze locale, respectiv din esterificarea colesterolului vehiculat de β-lipoproteine cu acidul oleic sintetizat în mitocondriile celulelor musculare din peretele arterial (SMITH și SMITH 1972 a).

Aceste rezultate ar sugera că în perioada 15—20 de ani se produce o creștere a permeabilității endoteliale pentru β-lipoproteine sau apar eroziuni endoteliale mai numeroase prin care aceste macromolecule trec în mare cantitate; în aceeași perioadă a vieții s-ar produce o reținere mai marcată a β-lipoproteinelor în peretele arterial, ce s-ar putea asocia și cu o degradare mai redusă a esterilor de colesterol acumulați în lizozomii celulelor. Prevalența fiecărui proces este greu de stabilit, dar în ansamblu se creează condițiile adecvate apariției acumulărilor lipidice cu caracter patologic.

Un factor important în potențarea acestor acumulări îl reprezintă hipertensiunea arterială, instalată în cursul copilăriei sau adolescenței. Creșterea peste normal a valorilor presiunii sistolice dublează cantitatea de macromolecule de β-lipoproteine ce pătrund în intimele arterelor și implicit numărul de macromolecule reținute în peretele vascular (SMITH și SMITH 1976). În prezența și a unei hipercolesterolemii, hipertensiunea arterială creează condițiile unei vehiculări masive a colesterolului plasmatic în intima arterelor, cu apariția mai rapidă a depozitelor lipidice cu caracter patologic. Rapiditatea și severitatea acumulărilor lipidice în cursul copilăriei și adolescenței ar mai fi potențată și de existența unor boli cu localizări extravasculare, acționînd

Scanned with OKEN Scanner

probabil tot prin intermediul creşterii permeabilităţii endoteliale (CĂLUŞER şi MUREŞAN 1975; CĂLUŞER şi col. 1975).

În sfîrşit, implicarea lipoproteinelor în aterogeneză este bazată şi pe dovezi indirecte, cum ar fi:

— asocierea manifestărilor clinice precoce ale aterosclerozei arterelor coronare cu boli genetice sau cîştigate în care există o creştere semnificativă şi de lungă durată a valorilor β-lipoproteinelor;

— existenţa unor valori ridicate ale β-lipoproteinelor şi scăzute ale α-lipoproteinelor la pacienţii cu cardiopatie ischemică;

— corelarea ratei de mortalitate prin cardiopatie ischemică din variate ţări cu nivelul mediu al colesterolemiei;

— apariţia mai frecventă a cardiopatiei ischemice în cursul unor observaţii longitudinale, la persoanele cu hipercolesterolemie şi/sau hipertrigliceridemie, în comparaţie cu subiecţii normocolesterolemici şi normotrigliceridemici;

— raritatea cardiopatiei ischemice la populaţii cu valori scăzute ale β-lipoproteinelor şi crescute ale α-lipoproteinelor;

— similaritatea *pattern*-ului biochimic al lipidelor din leziunile de ateroscleroză cu cel al β-lipoproteinelor, afirmaţia referindu-se în special la plăcile aterosclerotice.

2. PARTICULARITĂŢI STRUCTURALE ŞI FUNCŢIONALE ALE LIPOPROTEINELOR

a. DATE CU CARACTER GENERAL

Apariţia, pe scară filogenetică, a macromoleculelor de lipoproteine, poate fi corelată cu necesităţile de transport ale lipidelor hidrofobe în masa sîngelui circulant. Pentru vehicularea acizilor graşi sînt suficiente doar albuminele serice; pentru vehicularea unor mari cantităţi de colesterol liber şi esterificat, precum şi de trigliceride, s-au format complexe lipidoprotidice, apărînd sub aspectul unor macromolecule cu diametre variind între 80 şi 1 000 Å, cunoscute sub denumirea de lipoproteine. Acest sistem organizat de transport al lipidelor hidrofobe satisface nevoia continuă de colesterol şi trigliceride a tuturor celulelor din organism, cărora le furnizează atît lipidele provenite din alimente, cît şi cele sintetizate în organe specializate. Importanţa acordată acestui sistem de transport a devenit tot mai mare pe măsură ce s-a constatat, mai ales în culturi de ţesuturi, că marea majoritate a celulelor sintetizează fosfolipide, dar nu sînt capabile să sintetizeze şi colesterol. Drept urmare, pentru satisfacerea nevoilor continue de colesterol ce intră în constituţia membranei celulei şi a variatelor organite intracelulare este necesar să ajungă la acest nivel colesterolul provenit din alimente. El este utilizat preferenţial şi în prezenţa colesterolului de origine endogenă, anumite celule folosind în culturi de ţesuturi numai colesterolul exogen (BAILEY 1973).

Pentru a se adapta acestor necesităţi, lipoproteinele au o structură dinamică, permiţînd schimburi şi transferuri rapide de substanţe. Ele se produc atît în prezenţa, cît şi în absenţa oxigenului, glucozei şi a variate echipamente enzimatice, sugerînd predominanţa proceselor fizico-chimice asupra celor biologice.

Scanned with OKEN Scanner

Mecanismul intim care guvernează aceste schimburi și transferuri de lipide hidrofobe între macromoleculele de lipoproteine, precum și între lipoproteine și macromoleculele constitutive ale membranelor celulare este încă puțin cunoscut. Prima dintre ipotezele mai larg acceptate (GURD 1960), sugera trecerea lipidelor de la starea de mezofază, intermediară între solid și lichid, spre prevalența fazei lichide. S-ar crea astfel „canale" de lipide hidrofile prin care s-ar scurge, spre periferia macromoleculei, lipidele hidrofobe acumulate în zona centrală a respectivei macromolecule. O altă ipoteză sugera slăbirea legăturilor dintre lipidele hidrofile și hidrofobe, permițînd deplasarea acestora din urmă spre regiunea unde se face schimbul. În sprijinul acestei ipoteze ar pleda constatarea că tratarea cu acetonă sau alți solvenți organici, slăbind legăturile lipidelor hidrofobe, favorizează schimbul de colesterol între macromoleculele de lipoproteine, sau între lipoproteine și membrane celulare. În cursul ultimilor ani se acordă o atenție tot mai mare apoproteinelor cu acțiune de „detergenți", prezente pe suprafața macromoleculelor de lipoproteine, mai ales a celor din clasa α. Apoproteinele de tip A, complexate cu fosfolipide (sfingomielină, fosfatidil colină și mai ales lecitină) au capacitatea de a „atrage" colesterolul din membranele celulare. În plus, schimburile rapide de lipide hidrofile de tipul fosfolipidelor, ar antrena și schimbul de colesterol liber legat de respectivele fosfolipide (JACKSON și col. 1975). Odată ajuns din membrane în macromolecula de α-lipoproteină, colesterolul liber este esterificat de *lecitin colesterol acil transferază* (LCAT), devenind insolubil în complexul fosfolipid-apoproteină și acumulîndu-se în centrul macromoleculei. În locul rămas liber este atrasă altă cantitate de colesterol ce suferă același proces de esterificare și deplasare spre centrul macromoleculei și ciclul se repetă pînă ce macromolecula de α-lipoproteină devine saturată cu colesterol esterificat pe care îl transportă apoi spre ficat, unde este folosit la sinteza acizilor biliari și a unor noi macromolecule de lipoproteine. O altă parte este cedată în sînge pre β-lipoproteinelor contra unei cantități corespunzătoare de fosfolipide necesare solubilizării altor cantități de colesterol liber atrase din membranele celulare. Cu cît esterificarea colesterolului pătruns în α-lipoproteine va fi mai rapidă și mai intensă, cantitatea de colesterol liber din respectivele macromolecule se va reduce, raportul colesterol liber / fosfolipide va deveni mai mic, creindu-se condiții favorabile transferului de colesterol liber din celule spre lipoproteine. Esterificarea în plasmă a colesterolului de către enzima LCAT apare astfel un mecanism biochimic de „atragere" a colesterolului liber din țesuturi. *Transferul* apare cînd există o concentrație mai ridicată în membrana celulară în comparație cu lipoproteina și este direcționat în mod invariabil din zona cu concentrația cea mai ridicată spre zona cu concentrația cea mai coborîtă. Întrucît raportul colesterol liber / fosfolipide este de aproximativ 0,8 în majoritatea membranelor celulare și de numai 0,2 în macromoleculele de α-lipoproteine, transferul se va produce în mod inevitabil ori de cîte ori macromoleculele de α-lipoproteine vor veni în contact direct cu membranele celulare, avînd ca rezultat deplasarea colesterolului liber spre aceste macromolecule (COOPER și col. 1977).

Am insistat mai mult asupra acestor particularități funcționale ale lipoproteinelor nu numai pentru că sînt mai puțin cunoscute, ci și pentru că pot fi implicate în patogenia aterosclerozei. Se consideră în general că acumulările patologice de colesterol în peretele arterial rezultă dintr-un aport excesiv al acestui lipid spre celulele musculare, cu depozitare progresivă în lizozomii acestor celule. Datele prezentate demonstrează însă că și o eliminare defectuoasă poate contribui la această depozitare progresivă chiar în absența unui aport exagerat către celulă. Cînd cantitatea de colesterol vehiculată spre celulele musculare netede din artere de către β-lipoproteine depășește capacitatea α-lipoproteinelor de a elimina din celule colesterolul în exces, apar condiții favorabile acumulărilor lipidice cu caracter patologic. Reducerea eliminării poate rezulta dintr-o esterificare masivă a colesterolului din lizozomii celulelor musculare netede, asociată cu o capacitate redusă de hidroliză a acestor esteri, spre a se permite schimbul sau transferul colesterolului liber. Reducerea eliminării mai poate rezulta însă și dintr-o insuficiență a esterificării colesterolului liber captat de α-lipoproteine, diminuîndu-se astfel posibilitatea ca noi cantități de colesterol liber să mai fie atrase spre aceste macromolecule. Cu cît va crește în α-lipoproteine raportul colesterol liber / fosfolipide, cu atît va fi eliminată din celule o cantitate mai redusă de colesterol (BELL 1976).

Scanned with OKEN Scanner

Toţi factorii generali sau / şi locali care potenţează esterificarea colesterolului în peretele arterial sau / şi diminuă esterificarea colesterolului în α-lipoproteine, acţionează în sens aterogen. În intima arterelor mari şi mijlocii de la om şi în special a aortei, arterelor coronare şi arterelor cerebrale, există o capacitate crescută de esterificare a colesterolului liber adus de β-lipoproteine şi o capacitate redusă de hidroliză a esterilor de colesterol. La anumite specii de mamifere şi păsări, acest *pattern* metabolic cu caracter aterogen se transmite genetic, putînd fi evidenţiat în culturile de ţesuturi de celule musculare din intima aortei (SMITH S.C. şi SMITH, 1974).

b. ASPECTE PARTICULARE

În *fig. 42* prezentăm aspectul electronomicroscopic, la coloraţia negativă, a pre β, β şi α-lipoproteinelor, iar în *tabelele X, XI* şi *XII* principalele lor particularităţi fizice, fizico-chimice şi biochimice. Se poate constata o mare heterogeneitate structurală, evidenţiată de altfel şi prin studii imunologice şi mai ales imunogenetice (RAPACZ, 1978). Un aspect particular al acestei heterogeneităţi îl reprezintă fracţiile proteice ale lipoproteinelor, denumite apoproteinele A, B, C, D şi E. Ele acţionează ca agenţi solubilizanţi ai lipidelor

TABELUL X

Particularităţi fizice, chimice şi fizico-chimice ale lipoproteinelor

LIPOPROTEINA:	Chilomicroni	PRE β	β	α
Diametrul (Å)	>700	280 – 700	200 – 280	75 – 120
Greutate moleculară	$10^8 - 10^9$	$5 \times 10^6 - 10^8$	$1 - 4 \times 10^6$	$2 - 4 \times 10^5$
Densitate (g/ml)	<0,95	0,95 – 1,006	1,006 – 1,063	1,063 – 1,125
Concentraţie sanguină mg/100 ml				
bărbaţi	–	50 – 150	300 – 400	50 – 100
femei	–	50 – 100	250 – 300	150 – 200
Componente la % g. greutate totală:				
proteine	0,3 – 2,5	8 – 12	20 – 25	45 – 55
fosfolipide	2 – 12	15 – 25	20 – 25	25 – 30
colesterol liber	1 – 3	5 – 10	5 – 10	3 – 8
colesterol esterificat	1 – 2,5	12 – 15	35 – 45	15 – 25
trigliceride	80 – 95	55 – 70	5 – 10	2 – 6
glucide	<1	<1	1 – 2	<1
Fosfolipide din totalul lipidelor (%):				
lecitină	66 – 75	60 – 70	63 – 68	63 – 75
sfingomielină	12 – 20	14 – 20	24 – 26	10 – 12
lizolecitină	3 – 5	2 – 5	2 – 4	2 – 4
fosfatidil etanolamină	6 – 8	4 – 6	2 – 4	2 – 6
inozitol fosfatide	1 – 2	1 – 3	1 – 2	1 – 2
Apoproteina	A,B.C.	A,B.C.	B	A

Scanned with OKEN Scanner

hidrofobe şi sînt cofactori esenţiali în reglarea activităţii lipoprotein lipazei, lecitin colesterol acil transferazei (LCAT) şi a numeroase alte enzime implicate în metabolismul lipidic.

O prezentare comparativă a structurii şi compoziţiei chimice a celor mai aterogene şi antiaterogene clase de lipoproteine, respectiv clasele β şi α, evidenţiază: greutăţi moleculare apropiate (3×10^6 şi respectiv 3×10^5); diametru cel puţin de două ori mai mare al particulei aterogene (150—200 Å şi respectiv 45—110 Å); conţinutul în colesterol de două ori şi jumătate mai bogat în particula aterogenă (45% faţă de 18%); predominanţa lipidelor hidrofobe în particula aterogenă şi a celor hidrofile în cea antiaterogenă; raportul colesterol esterificat / colesterol liber 3,6 în particula aterogenă şi 8 în cea antiaterogenă; prezenţa apoproteinei B în particula aterogenă (aproximativ 81 mg% la bărbaţi şi 72 mg% la femei) şi a apoproteinelor din grupul A în particula antiaterogenă (aprox. 122 mg% la bărbaţi şi 133 mg% la femei).

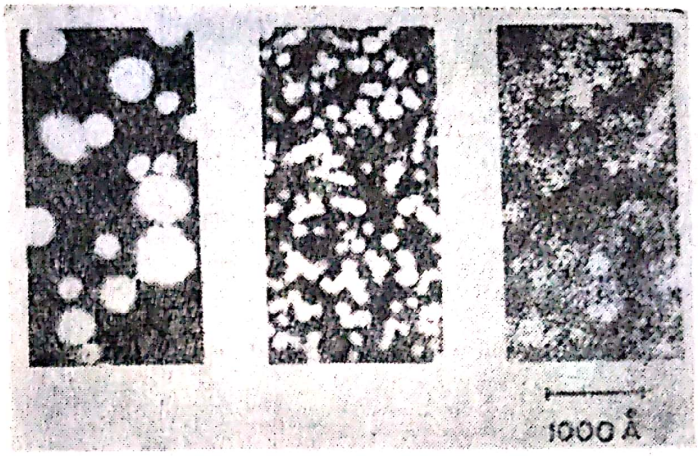


Fig. 42 Aspectul electronomicroscopic, la coloraţia negativă, a pre β-lipoproteinelor (stînga), β-lipoproteinelor (mijloc) şi α-lipoproteinelor (dreapta).

TABELUL XI

Particularităţi chimice ale subspeciilor din clasa α de lipoproteine

SUBSPECIA	Variante imunochimice:	Proteine %	Esteri de colesterol %	Colesterol liber %	Trigliceride %	Fosfolipide %
α_{2a}	(Lp A)	40,1	13,1	4,4	3,4	35,2
α_2	(Lp A)	56,1	9,4	2,2	3,2	27,0
α_{2b}	(Lp B)	39,5	25,1	6,8	5,1	21,0
α	(Lp C)	51,0	15,2	1,5	5,4	26,0
„very high"		75,0	6,0	2,5	1,5	22,0

TABELUL XII

Valorile colesterolului, corelate cu vîrsta, în variate clase de lipoproteine

VÎRSTA (ani)	Colesterolul (mg/100 ml) α				
	total	pre β	β	♂	♀
0	50—59	0—15	20—54	30—55	30—55
1—19	120—230	5—25	50—170	30—65	30—70
20—29	120—240	5—25	60—170	35—70	35—75
30—39	140—270	5—35	70—190	30—65	35—80
40—49	150—310	5—35	80—190	30—65	40—85
50—59	160—330	10—40	80—210	30—65	35—85

Scanned with OKEN Scanner

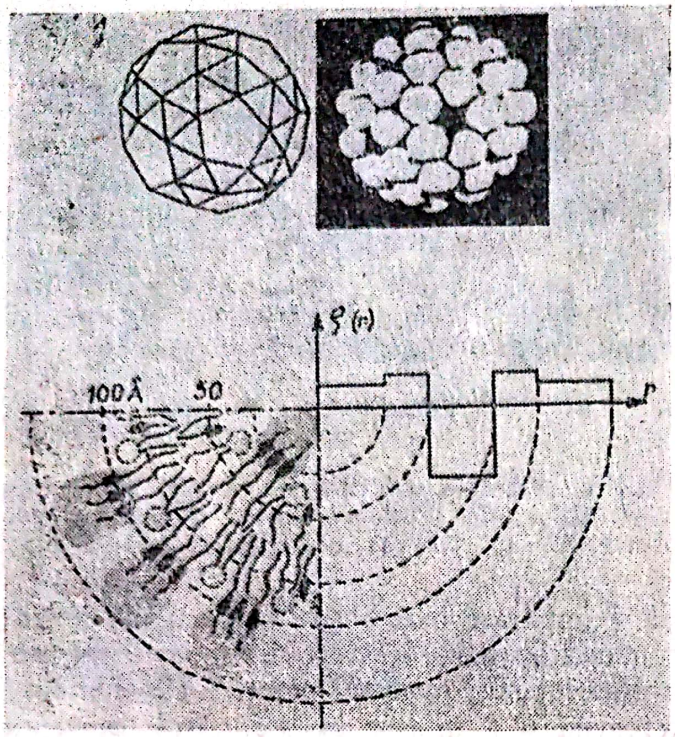


Fig. 43. Model macromolecular sugerat pentru structura β-lipoproteinelor, pe baza aspectului electronomicroscopic și difracției la raze X. Legendă: ⊸ colesterol, ⊸ esteri de colesterol, ∝ fosfolipide, ⬭ proteine (după MATEU, TARDIEU, LUZZATI, AGGERBECK și SCANU 1972, cu permisiunea editurii Academic Press, New York).

Modelele macromoleculare sugerate pentru *β-lipoproteine*, ca cel prezentat în *fig. 43* sînt bazate pe existența unor subunități cu organizare complexă. Observații electrono-microscopice ale particulelor de β-lipoproteine după coloratia negativă au evidențiat prezența a aproximativ 20 de astfel de subunități globulare, dispuse dodecahedric (MATEU și col., 1972). Suprafața acestor subunități apare ca un mozaic de lipide și proteine, incluzînd mai ales fosfolipide și apoproteina B, în timp ce zona centrală include lipidele hidrofobe de tipul colesterolului și trigliceridelor, poziția cea mai profundă fiind rezervată esterilor de colesterol. Apoproteina B este foarte bogată în arginină și are o configurație sterică ce o face aptă să se cupleze cu receptorii specifici de pe suprafața celulelor musculare din peretele arterial. După cuplare, invaginare și pătrundere în lizozomi apoproteina B nu este total degradată în amino acizii constituitivi, continuînd să persiste în peretele arterial în cantități ce variază în aorta de om între 0,34 și 18,45 μg/mg de țesut uscat, cu o medie de 5,45±3,95 SD (HOFF și col. 1977 a). În plăcile aterosclerotice au fost detectate valori mai mici decît în vasul fără leziuni, probabil datorită dificultăților de extracție (HOFF și col. 1978 a). β-lipoproteinele ar avea o configurație sterică ce le face apte să se cupleze și cu un complex macromolecular prezent în peretele arterial, denumit „factor de complexare" al lipoproteinelor (CAMEJO și col. 1976). Formarea acestui complex este inhibată după digestia cu hialuronidaze și proteaze; o creștere a capacității de complexare a β-lipoproteinelor s-a constatat la pacienții cu cardiopatie ischemică. Despre formarea de complexe între β-lipoproteine și mucopolizaharidele acide din substanța fundamentală a intimei arterelor s-au prezentat date amănunțite în capitolul anterior și nu mai revenim asupra lor. De asemenea, în capitolul III, în subcapitolul asupra celulei musculare netede sînt menționate date privitoare la formarea de complexe între macromoleculele de β-lipoproteine și receptorii specifici ai celulelor musculare din intima arterelor. Ar exista 7 500—15 000 astfel de receptori pe suprafața unei celule, acumulați în anumite zone de electie, numărul scăzînd cu aproximativ 50% în formele heterozigote ale hipercolesterolemiei familiare (hiperlipoproteinemia de tip II A) și cu 90—100% în formele homozigote ale bolii. Așa cum s-a mai menționat, capacitatea de complexare a β-lipoproteinelor cu receptorii specifici ar fi dirijată stereochimic

Scanned with OKEN Scanner

de prezența apoproteinei B pe suprafața unităților globulare constitutive ale macromoleculei. De aceea captarea β-lipoproteinelor poate fi competitiv inhibată de pre β-lipoproteine în exces; în condiții fiziologice și la concentrații egale, pre-β-lipoproteinele sînt reținute în număr de trei ori mai mic decît β-lipoproteinele, datorită conținutului lor de trei ori mai redus în apoproteină B.

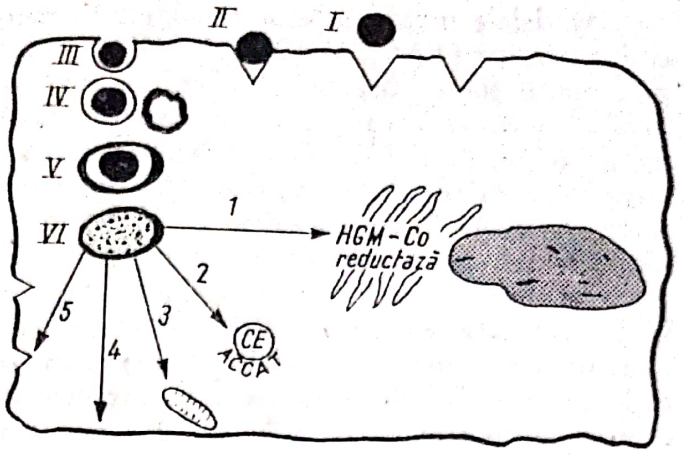


Fig. 44 Prezentare schematică a captării macromoleculelor de β-lipoproteine de către receptorii specifici de pe membrana celulei musculare netede din peretele arterial, conform ipotezei susținută de GOLDSTEIN și BROWN (1977, 1978). I, apropierea macromoleculei de β-lipoproteină de receptorul specific de suprafață; II, formarea complexului liproproteină-receptor; III, invaginarea complexului lipoproteină-receptor cu formarea unei vezicule de pinocitoză; IV, apropierea veziculei de pinocitoză de o veziculă lizozomală; V, fuzionarea veziculei de pinocitoză cu vezicula lizozomală; VI, degradarea macromoleculei de β-lipoproteină în vezicula lizozomală, cu formarea de acizi aminați, fosfolipide, trigliceride și colesterol liber. Colesterolul liber în exces produce: 1. Diminuarea sintezei de colesterol endogen prin inhibarea enzimei HGM-Co reductază. 2. Potențarea enzimei acilcoenzima A colesterol acil transferază (ACCAT) rezultînd o mărire a sintezei de colesterol esterificat cu acid oleic (CE). 3. Intensificarea sintezei de acizi grași în mitocondrii. 4. Trecerea unei părți din depozitul de colesterol intralizozomal în membrana celulei. 5. Inhibarea sintezei de noi receptori de suprafață pentru β-lipoproteine.

Fig. 44 sugerează că după formarea complexului β-lipoproteină — receptor, acesta din urmă se invaginează, dă naștere unei vezicule de pinocitoză care ulterior fuzionează cu veziculele lizozomale, creindu-se astfel condițiile adecvate degradării lipoproteinei în compușii constitutivi (BROWN și GOLDSTEIN 1974; GOLDSTEIN și col. 1976; GOLDSTEIN și BROWN 1977). Din această degradare rezultă importante cantități de colesterol liber; o parte este folosită pentru reconstrucția de membrane, o altă parte este schimbată sau transferată α-lipoproteinelor. Cînd colesterolul liber atinge un anumit prag valoric intralizozomal, se pun în funcțiune mecanisme *feedback* care inhibă HMG CoA-reductaza și implicit sinteza de colesterol endogen în respectiva celulă; inhibă formarea de noi receptori de suprafață, reducîndu-se astfel posibilitățile celulei de a îngloba noi macromolecule de β-lipoproteine; potențează sinteza acizilor grași la nivelul mitocondriilor, asigurînd astfel materialul lipidic necesar esterificării colesterolului liber; stimulează procesul de esterificare, rezultînd acumulări de esteri de colesterol în lizozomi. Procesele menționate reprezintă faza finală a catabolismului β-lipoproteinelor, timpul de înjumătățire a acestor macromolecule, de la conversiunea pre β-lipoproteinelor și pînă la degradarea totală fiind de 2,25—3,58 zile. În culturi de țesuturi, adăugarea de fosfolipide prelungește acest timp, iar în mod particular lecitina polinesaturată îl scurtează (JACKSON și col. 1975). Degradarea β-lipoproteinelor în substanțele constitutive este efectuată, în condiții fiziologice, de fibroblaste, limfocite, celulele musculare din artere și elementele cu proprietăți macrofage din sistemul reticulo-histiocitar.

Scanned with OKEN Scanner

Modelele macromoleculare sugerate pentru *α-lipoproteine* sînt încă subiecte controversate (TALL şi SMALL 1978). Ca şi pentru β-lipoproteine, ar exista mai multe subunităţi constitutive, cu diametre între 30 şi 50Å, incluzînd un nucleu central, bogat în esteri de colesterol şi o zonă periferică bogată în apoproteina A şi fosfolipide. Numărul acestor subunităţi ar varia în limite largi între diferitele macromolecule, după cum în limite largi variază şi greutatea moleculară, de la $1{,}7 \times 10^5$ la 5×10^5 (LAGGNER şi MÜLLER 1978). Heterogeneitatea structurală a α-lipoproteinelor se reflectă şi în heterogeneitatea compoziţiei chimice, evidenţiindu-se mai multe subclase (tabelul XI) şi în fiecare subclasă mai multe subfracţii cu cantităţi diferite ale substanţelor constitutive. Macromoleculele ce intră în subclasa 2 *b* prezintă valori mai ridicate la femei decît la bărbaţi, iar cele din subclasa 3 la bărbaţi decît la femei; pe de altă parte, subclasa 2 *a* nu ar varia cantitativ în funcţie de sex. În scăderile cantitative ale α-lipoproteinelor, evidenţiate la pacienţii cu cardiopatie ischemică, sînt implicate în primul rînd subclasele 2 *b* şi 2 *a* (ANDERSON şi col. 1978).

Principalul factor constitutiv al α-lipoproteinelor este apoproteina A, proporţia ei putînd depăşi 50% din totalul substanţelor ce intră în compoziţia macromoleculei. Apoproteina A conţine mai multe fracţii, cele mai cunoscute fiind desemnate I şi II, ambele alcătuind aproximativ 90% din totalul proteinelor. Apoproteina A I interacţionează în modelele macromoleculare ale α-lipoproteinelor cu fosfolipidele, în special cu lecitina. *In vitro*, în prezenţa lizolecitinei, apoproteina A I şi lecitina formează complexe lipido-protidice similare α-lipoproteinelor sintetizate în ficat. Aceste complexe au o formă discoidală şi includ structuri bilamelate. Apoproteina A II prezintă o dispoziţie helicoidală în combinaţie cu lecitina şi o stabilitate structurală mai mare în comparaţie cu A I, ce se menţine atîta timp cît în mediul respectiv se găseşte şi lizolecitina (PALUMBO şi EDELHOCH 1977). Raportul dintre fracţiile A I/A II este mai mare în subclasa 2 decît în subclasa 3 a α-lipoproteinelor; de asemenea, apare mai mare la femei decît la bărbaţi şi este influenţat de valorile estrogenilor circulanţi (SHEPHERD şi col. 1978).

Suprafaţa macromoleculei de α-lipoproteină conţine zone specifice de cuplare cu variate enzime, în primul rînd lecitin colesterol acil transferaza (LCAT), apoproteina A fiind considerată activatorul biologic al acestei enzime. Transferarea acidului gras din poziţia a 2-a a lecitinei în poziţia 3 β-OH a colesterolului liber are loc numai în prezenţa apoproteinei A, aşa cum sugerează *fig. 45*. Tot apoproteina A creează o configuraţie sterică adecvată pentru stabilizarea şi activarea lipoprotein lipazei. Se mai atribuie complexului format de apoproteinele E şi A II capacitatea de a lega macromolecula de lipoproteină de receptori specifici de pe suprafaţa fibroblastelor şi celulelor musculare din artere. Acest proces este condiţionat de conversiunea formei inactive a complexului apoproteina E—A II într-o formă biologic activă, în care predomină apoproteina E (INNERARITY şi col. 1978). Dintre toate subclasele de lipoproteine α, subclasa I, care conţine cantitatea cea mai mare de apoproteină E asociată cu apoproteina A, se leagă cel mai puternic de receptorul pentru β-lipoproteine al fibroblaştilor. Această cuplare cu receptorii ar favoriza captarea colesterolului, permiţînd un contact mai strîns şi prelungit cu membrana celulară. Atragerea colesterolului liber s-ar datora existenţei unui complex apoproteina A — sfingomielină — fosfatidilcolină pe suprafaţa macromoleculei, în care este dizolvat colesterolul transferat din

Scanned with OKEN Scanner

membrană. Esterificat imediat de LCAT, colesterolul devine insolubil şi este depozitat în zona centrală a macromoleculei, locul rămas liber fiind ocupat de o nouă cantitate de colesterol liber transferată din membrana celulei; el este în continuare esterificat şi depozitat, apoi înlocuit cu o nouă cantitate de colesterol liber transferat din celulă şi procesul de captare al colesterolului continuă pînă la saturarea macromoleculei de α-lipoproteină. Dacă celulele musculare netede din arterele coronare de porc au fost puse într-un mediu conţinînd colesterol marcat, ele au reţinut 180±34 n moli/g; dacă la mediul de cultură s-a adăugat şi α-lipoproteine în exces, cantitatea de colesterol din celule a fost de numai 118± 22 n moli/g, diferenţa avînd o semnificaţie de $p < 0{,}001$ (SARMA şi col. 1978). Rezultatele ar indica pătrunderea în α-lipoproteine a unei părţi din colesterolul reţinut în celule. La nivelul plăcii aterosclerotice, α-lipoproteinele par a fi implicate în eliminarea depozitelor de colesterol şi prin dizolvarea cristalelor prezente în aceste depozite. În contact cu cristalele, α-lipoproteinele formează la suprafaţa respectivelor cristale figuri mielinice, proces ce este potenţat de prezenţa lecitinei polinesaturate (ADAMS şi ABDULLA 1978). Figurile mielinice, cu aspect de lipozomi, au diametre între 30 şi 1 200 nm şi conţin concentraţii mai mari de colesterol decît α-lipoproteinele, precum şi concentraţii mai reduse de fosfolipide, în care predomină sfingomielina şi fosfatidil serina. Sfingomielina pare a juca un rol important în dizolvarea colesterolului cristalizat (ABDULLA şi ADAMS 1978).

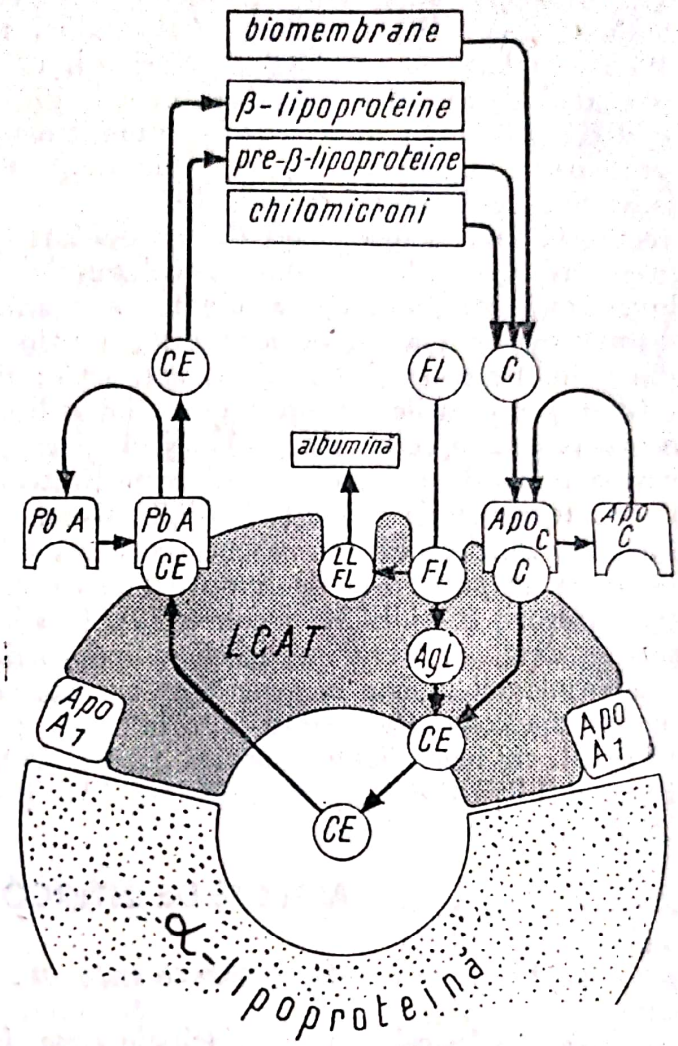


Fig. 45 Prezentarea schematică a reacţiei catalizate de lecitin colesterol acil transferază (LCAT). Enzima este cuplată cu o macromoleculă de lipoproteină α, fiind activată de apoproteinele A_1 ale respectivei macromolecule. Legendă: C, colesterol liber; CE, colesterol estrificaet; FL, fosfolipide; PbA, peptide bogate în arginină; Apo, apoproteină; AgL, acizi graşi liberi; LL, lizolecitină; LCAT, lecitin colesterol acil transferază (după AUGUSTIN, MIDDELHOFF şi BROWN, 1976, cu permisiunea Editurii Springer, Berlin, New York).

Cu aproape trei decenii în urmă s-a atras atenţia că incidenţa cardiopatiei ischemice este invers asociată cu nivelul colesterolului din α-lipoproteine (BARR şi col. 1951). Această observaţie şi-a găsit adevărata valorificare doar în cursul ultimilor ani; în plus, ea a fost considerabil lărgită, constatîndu-se

Scanned with OKEN Scanner

asocieri negative ale colesterolului din α-lipoproteine şi cu obezitatea (WILSON şi LEES 1972), diabetul (GORDON şi col. 1977 a; HOWARD şi col. 1978) şi tabagismul (GARRISON şi col. 1978), precum şi asocieri pozitive cu consumul de alcool (CASTELLI şi col. 1977) şi exerciţiul fizic (GILLIAN şi BURKE 1978). În studiul de la Framingham, nivelul colesterolului din α-lipoproteine a prezentat cea mai puternică asociere cu incidenţa cardiopatiei ischemice (GORDON şi col. 1977 b). Riscul nu a apărut la valori peste 45 mg/100 ml, a început să devină evident la 35 mg/100 ml şi a crescut apoi progresiv cu scăderea valorilor colesterolului din α-lipoproteine. În anumite investigaţii longitudinale efectuate în afara Statelor Unite, colesterolul din α-lipoproteine a avut, de asemenea, o valoare predictivă mai bună decît cel din β-lipoproteine (MILLER şi col. 1977; FØRDE şi col. 1978). S-au notat scăderi ale valorilor colesterolului din α-lipoproteine şi la pacienţii cu accidente vasculare cerebrale (RÖSSNER şi col. 1978). Mai menţionăm şi observaţiile privind media de vîrstă semnificativ prelungită la subiecţii cu hiperlipoproteinemie de tip α (GLUECK şi col. 1976). În lumina datelor acumulate, se consideră că nou-născuţii cu hiper α-lipoproteinemie şi hipo β-lipoproteinemie au *pattern*-ul de lipoproteine ce conferă cea mai mare rezistenţă la ateroscleroză (GLUECK şi col. 1978). În sfîrşit, mai menţionăm în încheierea acestor date, că sfera implicării α-lipoproteinelor în patogenia aterosclerozei şi a patologiei umane în general se extinde an de an, anomalii structurale ale acestor macromolecule fiind puse la baza apariţiei aterosclerozei accelerate la pacienţii cu hemodializă cronică (RAPOPORT şi col. 1978) sau cu boala Tangier (HERBERT şi col. 1978; SCHAEFER şi col. 1978).

3. ASPECTE DE INTERCONVERSIUNE

a. CONVERSIUNEA PRE β ÎN β-LIPOPROTEINE

Prezenţa în cele patru principale clase de lipoproteine a numeroase apoproteine cu funcţii variate, a sugerat existenţa unui sistem plasmatic de autoreglare, similar celui din coagularea sîngelui. Acest sistem de autoreglare poate fi implicat în patogenia aterosclerozei atunci cînd este orientat spre formarea în exces a macromoleculelor de β-lipoproteine, principalele furnizoare de colesterol ale celulelor din peretele arterial.

Din materialul adus la ficat de către „resturile" de chilomicroni, precum şi din materialul rezultat din sinteze endogene, ficatul construieşte macromoleculele de pre β-lipoproteine, principalul vehicul al trigliceridelor de origină endogenă. „Asamblarea" acestor macromolecule în celula hepatică începe cu formarea complexelor alcătuite din fosfolipide şi apoproteinele A, B, C; ajunse la nivelul aparatului Golgi, aceste complexe sînt reasamblate prin includerea trigliceridelor şi colesterolului liber şi esterificat. În final, macromolecula apare ca fiind constituită în proporţie de aproximativ 90% din lipide şi aproximativ 10% din proteine. De o importanţă deosebită pentru fiziologia pre β-lipoproteinelor şi a β-lipoproteinelor sînt apoproteinele B şi C. S-a subliniat, în paginile anterioare, că apoproteina B creează condiţiile sterice de suprafaţă adecvate pentru cuplarea β-lipoproteinelor cu receptorii specifici ai celulelor musculare din peretele arterial. În ceea ce priveşte apoproteina C, ea are o im-

Scanned with OKEN Scanner

portanță deosebită pentru pre β-lipoproteine, variațiile cantitative ale fracțiilor ei constitutive determinînd conversiunea clasei pre β în clasa β. Apoproteina C include fracțiile C I (apo-ser), C II (apo-glu) C III_1 (apo-ala I) și C III_2 (apo-ala II); numărul acestor fracții, ca și al subfracțiilor constitutive și al apoproteinelor în general va crește probabil pe măsura îmbunătățirii metodelor de extracție și identificare. Astfel, recent, s-a identificat și o apoproteină E, bogată în arginină care, așa cum am menționat în paginile anterioare este implicată în fixarea atît a pre β-lipoproteinelor, cît și a α-lipoproteinelor pe receptorii specifici ai celulelor musculare, avînd astfel un anumit rol în distribuirea și redistribuirea colesterolului (WEISGRABER și MAHLEY 1978). Revenind la apoproteina C, subliniem importanța fracției C II (apo-glu), cu o greutate moleculară de aproximativ 10 000, care joacă rol de activator biologic al lipoprotein lipazei. În sînge, această fracție are un circuit complicat, fiind cedată α-lipoproteinelor după activarea lipoprotein lipazei și recuperată de la α-lipoproteine spre a se produce o nouă activare. Pacienții cu un deficit funcțional al lipoprotein lipazei au cantități extrem de reduse de apoproteină C II în pre β-lipoproteine și sînt supuși pericolului hipertrigliceridemiilor de lungă durată. Tot datorită inactivării lipoprotein lipazei de către apoproteina C II poate apare o hiperlipoproteinemie de tipul celor caracterizate prin predominanța trigliceridelor. În condiții fiziologice, creșterea valorilor trigliceridemiei, caracteristică stărilor postabsorptive, induce o mărire a sintezei de apoproteine C în ficat, trigliceridele acționînd ca receptori specifici pentru respectivele apoproteine. Marea variabilitate a concentrației apoproteinelor din pre β-lipoproteine ar reflecta dinamismul structurii acestor macromolecule, adaptabilă vehiculării unor cantități foarte variate de trigliceride de origină endogenă și exogenă.

Pătrunse în circulație după ce au fost sintetizate în ficat și în parte în peretele intestinal, macromoleculele de pre β-lipoproteine sînt supuse acțiunii degradative exercitată de lipoprotein lipază. Enzima ar exista sub două forme interconvertibile, o formă intracelulară de rezervă (LPL_b) și o formă extracelulară activă (LPL_a). Proporția celor două forme este dependentă de cantitatea de AMP-ciclic existent în celule. Cu cît această cantitate va fi mai mare, forma activă a lipoprotein lipazei va fi mai redusă comparativ cu cea inactivă și invers. Forma activă a enzimei prezintă un mod particular de atașare în spațiile extracelulare, fiind legată de stratul de „glicocalix" de pe suprafața endoteliului prin intermediul unor lanțuri mucopolizaharidice. Dacă se administrează heparină, această substanță se substituie respectivelor lanțuri, eliberînd enzima din legăturile cu endoteliul; așa s-ar explica creșterea considerabilă a concentrației lipoprotein lipazei după perfuzia cu heparină a plămînilor, miocardului, mușchiului scheletic și mai ales a țesutului adipos. Din intima arterelor cu plăci aterosclerotice s-a izolat o glicoproteină, conținînd 80% proteine, capabilă să inhibe lipoprotein lipaza (WAGH și OLIVECRONA 1978). Lipoprotein lipaza mai este supusă și influențelor hormonale, mai ales a insulinei și glucagonului și a raportului dintre aceste substanțe (LITHELL și col. 1978).

Venind în contact cu macromolecula de pre β-lipoproteină, lipoprotein lipaza este mai întîi activată de fracția C I. Aceasta potențează enzima ca fosfolipază, rezultînd eliminarea unor fosfolipide existente pe suprafața macromoleculei. Din această eliminare rămîn descoperite fracțiile C II ale apoproteinei care reprezintă activatorul biologic al lipoprotein lipazei, rezul-

Scanned with OKEN Scanner

tînd degradarea trigliceridelor în acizi graşi şi glicerol. Odată cu degradarea unei anumite cantităţi de trigliceride, pre β-lipoproteina pierde şi o anumită cantitate din apoproteina C II de care erau ataşate respectivele trigliceride, rezultînd o îmbogăţire cu C II a α-lipoproteinelor. După această hidroliză parţială, macromolecula de pre β-lipoproteină se desface de lipoprotein lipază, trece din nou liberă în circulaţie, dar este din nou atacată de o altă lipoprotein lipază şi eliminarea trigliceridelor reîncepe. Concomitent pre β-lipoproteinele mai sînt supuse şi proceselor de schimburi şi transfer, cedînd o parte a trigliceridelor către α-lipoproteine şi primind de la acestea colesterol esterificat. Acest schimb pare a fi stimulat de un factor plasmatic încă neidentificat şi care ar regla concentraţia lipidelor din pre β- şi α-lipoproteine, asigurînd menţinerea unui anumit echilibru.

Sărăcită progresiv în trigliceride prin acţiunea lipoprotein lipazei şi prin schimbul cu α-lipoproteine şi îmbogăţită în esteri de colesterol, macromolecula de pre β-lipoproteină îşi modifică semnificativ *patternul* structural şi biochimic. Hidroliza trigliceridelor de către numeroase lipoprotein lipaze cu care macromolecula de pre β-lipoproteină vine în contact la suprafaţa endoteliului va continua atîta timp cît vor exista încă apoproteine C II în cantităţi suficiente spre a activa enzimele respective. Cînd această cantitate scade sub limita necesară activării, lipoprotein lipaza devine indiferentă faţă de macromolecula de pre β-lipoproteină; această schimbare de comportament apare cînd din totalul lipidelor constitutive, trigliceridele au scăzut de la 45—55% la numai 8—12%. În acelaşi timp s-a produs o creştere a colesterolului esterificat de la 12—14% la 35—40%; se mai poate evidenţia în aceeaşi perioadă de timp o mărire progresivă a valorilor apoproteinei B, de la 8—12% la 20—24% din totalul proteinelor. Astfel s-a realizat trecerea de la compoziţia chimică a pre β-lipoproteinelor la cea a β-lipoproteinelor, trecere schematizată în *fig. 46*. Concomitent cu schimbarea *pattern*-ului biochimic se produce şi o scădere a diametrului macromoleculei, de la 300—800 Å la numai 190—200 Å, demonstrativ prezentată în fig. 41. Însfîrşit, se mai reduce şi greutatea moleculară, de la 5×10^{-6} pentru pre β-lipoproteine la numai $2{,}5 \times 10^{-6}$ pentru β-lipoproteine. Din datele prezentate nu se poate trage decît concluzia că *β-lipoproteinele sînt produsul de catabolism al pre β-lipoproteinelor.*

Conversiunea între cele două clase de lipoproteine apare cu atît mai repede şi mai complet cu cît scade mai mult cantitatea de trigliceride şi de apoproteină C sub acţiunea lipoprotein lipazei. În general, această conversiune include un mare număr de etape intermediare, nefiind afectată macromolecula de pre β-lipoproteină în totalitate, ci implicate progresiv doar anumite subunităţi constitutive ale macromoleculei. În consecinţă se poate evidenţia în orice moment existenţa unor forme „intermediare" între pre β şi β-lipoproteine, cunoscute şi sub denumirea prescurtată de IDL. Alte forme de tip intermediar apar genetic determinate ca o consecinţă a existenţei unor blocade în etapele conversiunii pre β-lipoproteinelor în β-lipoproteine. Unele dintre aceste forme au fost individualizate sub denumirea de Lp(a) şi considerate ca variante genetice ale β-lipoproteinelor (BERG 1963). Apariţia bandei distincte la electroforeză indusă de prezenţa acestei clase particulare de lipoproteine este considerată de anumiţi autori ca un factor de risc al aterosclerozei (DAHLEN şi col. 1974). Folosirea radioizotopilor a permis să se demonstreze că Lp(a) nu fac schimburi sau transferuri de lipide cu alte clase de lipoproteine (KREMPLER şi col. 1978). Semnificaţia lor este încă un

Scanned with OKEN Scanner

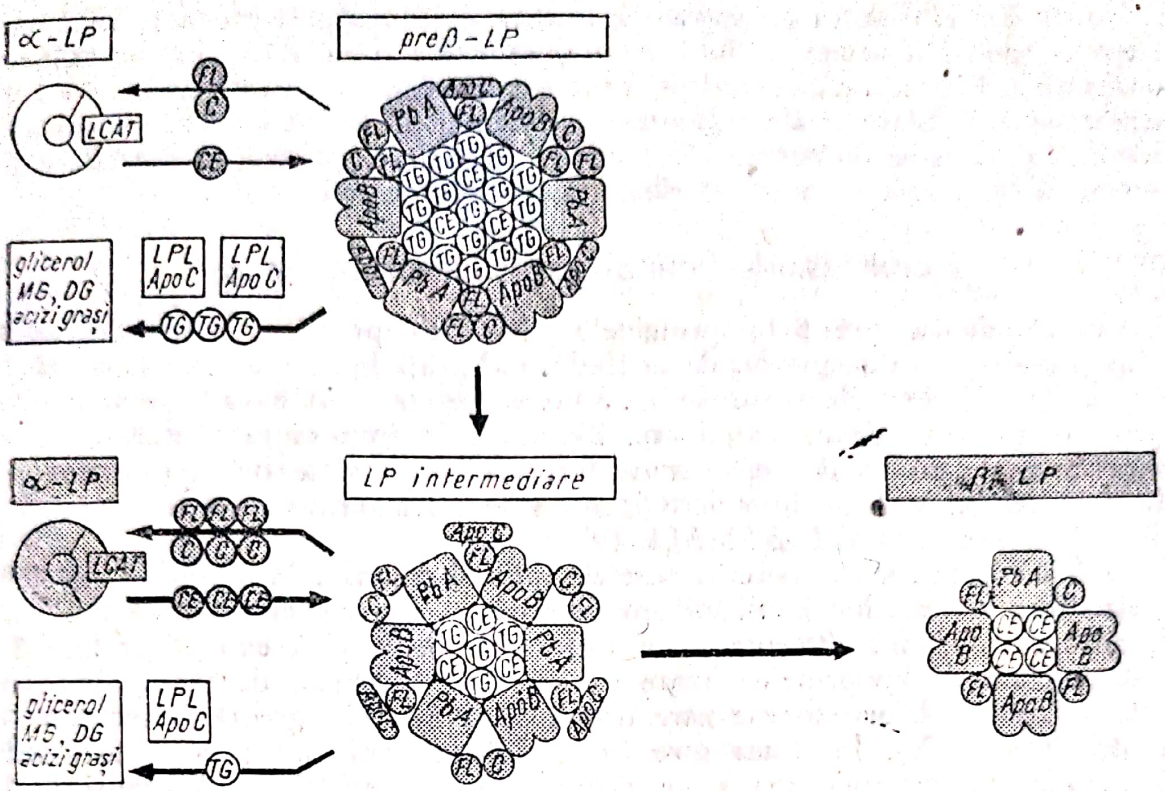


Fig. 46 Conversiunea pre β-lipoproteinelor în lipoproteine de tip intermediar şi în β-lipoproteine. Legendă: C, colesterol liber,; CE, colesterol esterificat; FL, fosfolipide; PbA, peptide bogate în arginină; TG, trigliceride; LCAT, lecitin colesterol acil transferază; Apo, apoproteină; LPL, lipoprotein lipază; MG, monogliceride; DG, digliceride. Vezi text p. 188 (după AUGUSTIN, MIDDELHOFF şi BROWN, 1976, modificat; cu permisiunea Editurii Springer, Berlin, New York).

subiect controversat, anumiţi autori atribuindu-le o acţiune aterogenă mai importantă decît aceea a β-lipoproteinelor; această acţiune aterogenă ar putea avea o anumită semnificaţie datorită prezenţei lipoproteinelor Lp(a) la aproximativ 1/3 din populaţia neselecţionată.

Defecte de conversiune a pre β în β-lipoproteine sînt menţionate la femei sub acţiunea contraceptivelor ce conţin atît estrogeni, cît şi progesteron; rezultă o acumulare de pre β-lipoproteine cu trigliceridele doar parţial degradate, conţinînd acizi graşi cu acţiuni trombogene. Dieta poate influenţa şi ea într-o anumită măsură conversiunea pre β în β-lipoproteine. Cu cît vor fi aduse de chilomicroni lipide mai numeroase celulei hepatice, va creşte sinteza de pre β-lipoproteine cu un conţinut mai bogat în trigliceride şi conversiunea va necesita etape intermediare mai complexe şi mai prelungite. Cercetări experimentale efectuate pe iepuri, porci şi maimuţe conţin rezultate concordante ce demonstrează că mărirea aportului alimentar de trigliceride şi colesterol este urmată de creşterea valorilor acestor lipide atît în pre β-lipoproteine, cît şi în formele intermediare de conversiune în β-lipoproteine.

Bogăţia de date de care dispunem astăzi privind conversiunea pre β-lipoproteinelor în β-lipoproteine, contrastează cu absenţa unor dovezi asupra existenţei unei conversiuni şi în sens invers. Această cale unidirecţională este considerată cel mai puternic argument în sprijinul afirmaţiei că β-lipoproteinele reprezintă produsul de catabolism al pre β-lipoproteinelor. Acest produs

Scanned with OKEN Scanner

de catabolism este dotat cu capacităţi sterice de suprafaţă spre a fi legat de receptori specifici, acumulat în lizozomii celulelor şi degradat în substanţele constitutive. Din această degradare rezultă colesterolul şi fosfolipidele necesare membranelor celulare şi ale organitelor celulei, precum şi trigliceridele ce pot fi utilizate ca sursă de energie. Excesul de acumulare, defecte de degradare şi de schimb sau transfer, toate contribuie la procesul de aterogeneză.

b. CONVERSIUNEA CHILOMICRONI-α-LIPOPROTEINE (?)

Conversiunea pre β-lipoproteinelor în β-lipoproteine şi considerarea β-lipoproteinelor ca un produs de catabolism al pre β-lipoproteinelor este astăzi larg acceptată, dovezile existente în acest domeniu fiind bazate pe o documentaţie ştiinţifică de certă valoare. Recent, a început să se contureze existenţa unui alt proces de conversiune între diferitele clase de lipoproteine şi anume a „resturilor" de chilomicroni, sau a unor fragmente a acestor „resturi" în α-lipoproteine (TALL şi SMALL 1978).

Chilomicronii iau naştere în peretele tubului digestiv, în special la nivelul intestinului, sinteza lor implicînd complexarea apoproteinelor A, B şi C cu lipide hidrofobe din alimente şi cu fosfolipide de origină exo- şi endogenă. Această clasă de lipoproteine apare ca principalul vehicul de transport spre ficat a trigliceridelor exogene care ocupă 80—95% din greutatea macromoleculei (tabelul X). În drum spre ficat, chilomicronii sînt supuşi hidrolizei exercitată de lipoprotein lipaze care degradează trigliceridele în glicerol şi acizi graşi, eliberînd şi o parte a apoproteinei C, conform secvenţelor descrise la pre β-lipoproteine. Chilomicronii săraciţi de conţinutul trigliceridic îşi reduc considerabil diametrul macromoleculei, modificîndu-se în acelaşi timp raportul dintre trigliceride şi colesterol, în favoarea acestuia din urmă. Aspectul acestor chilomicroni este mai mult sau mai puţin similar macromoleculelor care au fost supuse in vitro unui proces de delipidizare, transformîndu-se în „resturi". *In vivo*, „resturile" de chilomicroni ajung la ficat unde degradarea trigliceridelor continuă sub acţiunea unei triglicerid lipaze, fiind în plus hidrolizaţi şi esterii de colesterol în acizi graşi şi colesterol liber sub acţiunea unor esteraze, în timp ce fosfolipazele hepatice desfac în unităţi constitutive fosfolipidele. Drept urmare, după aproximativ şase ore de la un prînz bogat în lipide, chilomicronii şi cea mai mare parte a „resturilor" lor dispar din circulaţie. În condiţiile unui aport normal de „resturi" de chilomicroni către ficat, rata de sinteză intrahepatică a colesterolului rămîne şi ea între limitele fiziologice. Dacă numărul „resturilor" de chilomicroni care invadează ficatul este mare, sinteza endogenă a colesterolului se reduce, iar dacă numărul „resturilor" este prea mic, sinteza endogenă de colesterol se intensifică. Asupra eficienţei acestor mecanisme *feedback* vom reveni în paginile următoare.

Nu ajung însă la ficat toate „resturile" de chilomicroni, o parte fiind fagocitate de elementele sistemului reticulo-histiocitar, o parte sînt reţinute în ţesutul adipos şi o anumită parte, încă neprecizată, s-ar ataşa de stratul de mucopolizaharide existent pe endoteliile vasculare. Ulterior ar fi pinocitate sau fagocitate şi eliberate în intimă unde pot pune în libertate o anumită cantitate de esteri de colesterol, fiind astfel implicate în patogenia aterosclerozei (ZILVERSMIT 1975).

Se susţine că în cursul lipolizei chilomicronilor în circulaţie, anumite componente de suprafaţă, alcătuite în special din apoproteine şi fosfolipide,

Scanned with OKEN Scanner

s-ar detaşa de macromoleculă şi ar circula avînd un aspect discoidal similar α-lipoproteinelor nascente intrahepatice. Pe măsură ce trigliceridele sînt eliminate din chilomicroni sub acţiunea lipoprotein lipazei, zona centrală a macromoleculei ar suferi un proces de retractare, constituenţii de suprafaţă propulsînd spre periferie sub forma unor pliuri conţinînd lipide bistratificate. Aceste pliuri ar proemina un anumit timp la suprafaţa chilomicronilor, apoi s-ar detaşa sub aspectul unor particule discoidale care ulterior pot lua şi aspect de veziculă. Avînd o anumită cantitate de apoproteină A sau primind această apoproteină de la α-lipoproteinele circulante, fragmentele detaşate din chilomicroni activează lecitin colesterol acil transferaza (LCAT) care esterifică colesterolul. Procesul de esterificare durează pînă se epuizează cantitatea de lecitină transformabilă în lizolecitină, după modelul descris pentru α-lipoproteine. Lizolecitina eliminată în circulaţie se leagă de albumine, în timp ce colesterolul esterificat devenind intens insolubil dislocă structurile bilamelare şi pătrunde spre centrul macromoleculei care ia treptat aspectul de sferă. În acest moment nu se mai pot deosebi α-lipoproteinele sintetizate sub formă discoidală de ficat şi devenite ulterior sferice sub acţiunea LCAT, de α-lipoproteinele apărute prin conversiunea unor „resturi" ale chilomicronilor. Atît macromoleculele sintetizate de ficat, cît şi cele provenind din „resturile" de chilomicroni, îşi păstrează forma discoidală, cu structură bilamelară a complexelor lipido-protidice, dacă nu sînt supuse acţiunii lecitin colesterol ester transferazei (LCAT). Structuri discoidale similare pot fi obţinute şi *in vitro* incubînd apoproteina A cu lecitină şi colesterol liber. În consecinţă, prezenţa în circulaţie a particulelor discoidale reflectă o deficienţă a LCAT, respectiv a esterificării colesterolului în plasmă. Nu se poate preciza ce proporţie a acestor formaţiuni discoidale provine din ficat şi ce proporţie din „resturile" de chilomicroni. Faptul că la om peste 90% din apoproteina A prezentă în chilomicroni este ulterior regăsită în α-lipoproteine ar pleda pentru ipoteza privind rolul chilomicronilor ca precursori ai α-lipoproteinelor (TALL şi SMALL 1978). În acelaşi sens pledează şi observaţiile privind formarea accelerată de α-lipoproteine în condiţiile unui transport mărit de lipide prin chilomicroni.

4. HIPERLIPOPROTEINEMII CU POTENŢIALITĂŢI ATEROGENE

Se pot individualiza următoarele entităţi: I) hipercolesterolemii asociate cu normotrigliceridemii, cu raport colesterol/trigliceride în plasmă mai mare de 2,5, caracterizate prin claritatea serului şi valorile extrem de ridicate ale colesterolemiei (*hiperlipoproteinemiile de tipul IIA*): II) hipertrigliceridemii asociate cu normocolesterolemii, cu raport trigliceride/colesterol în plasmă mai mare de 2,5 sau colesterol/trigliceride mai mic de 0,4, caracterizate prin lactescenţa serului şi valorile foarte ridicate ale trigliceridelor (*hiperlipoproteinemiile de tipul I, IV şi V*); III) hipercolesterolemii şi hipertrigliceridemii, cu raportul colesterol/trigliceride fără modificări semnificative, caracterizate prin opalescenţa serului à jeun (*hiperlipoproteinemiile de tipul III sau IIB+IV*).

În clasificarea propusă de FREDRICKSON (FREDRICKSON şi col. 1967), cea mai larg utilizată, sînt descrise: hiperlipoproteinemia de tip I, cu hipertrigliceridemie severă, indusă de o hiperchilomicronemie; hiperlipoproteinemia de tip IIA, cu hipercolesterolemie severă indusă de o hiper β-lipo-

Scanned with OKEN Scanner

proteinemie; hiperlipoproteinemia de tip IIB, cu hipercolesterolemie şi hipertrigliceridemie induse de o hiper β-lipoproteinemie şi hiperpre β-lipoproteinemie; hiperlipoproteinemia de tip III, de asemenea cu hipercolesterolemie şi hipertrigliceridemie, ambele induse de o hiperpre β-β-lipoproteinemie, în care predomină forme intermediare de macromolecule; hiperlipoproteinemia de tip IV, cu hipertrigliceridemie indusă de o hiperpre β-lipoproteinemie şi hiperlipoproteinemia de tip V, cu hipercolesterolemie şi hipertrigliceridemie, induse de o hiperchilomicronemie şi hiperpre β-lipoproteinemie. Clasificarea menţionată demonstrează că atît colesterolemia cît şi trigliceridemia pot creşte independent la valori foarte ridicate fără să existe un paralelism al acestor creşteri. Riscul apariţiei premature şi severe a plăcilor aterosclerotice a fost asociat cu prezenţa tipurilor IIA, IIB, III, IV şi V.

Într-un studiu efectuat de peste 300 de pacienţi cu hiperlipoproteinemii primare, în vîrstă între 20 şi 60 de ani, se menţionează asocierea cardiopatiei ischemice mai ales cu tipul II (IIA 45%, IIB 47%), precum şi cu tipul IV (38%) şi V (17%). Pe de altă parte, arteritele periferice s-au asociat în primul rînd cu tipul IIB (21%) şi tipul V (20%), fiind mult mai rare la tipul IIA (9%). Din aceste rezultate s-ar putea trage concluzia că tipul IIB de hiperlipoproteinemie induce cele mai frecvente şi mai variate manifestări clinice ale aterosclerozei (CREPALDI şi col. 1977). La pacienţii cu hiperlipoproteinemie de tipul IIB s-a mai evidenţiat o mare heterogeneitate structurală şi biochimică a macromoleculelor de lipoproteine (NIKITINA şi col. 1977) şi o intensificare a activităţii reninei (GORBACEV şi VEŞERSKI 1976), apariţia hipertensiunii arteriale mărind considerabil riscul de cardiopatie ischemică. Într-un alt studiu, efectuat asupra personalului unui institut cu muncă intelectuală intensă (ingineri între 35 şi 45 de ani), pacienţii cu cardiopatie ischemică aveau, în proporţie de 27% hiperlipoproteinemii, mai ales tipurile mixte cu hipercolesterolemie şi hipertrigliceridemie, detectate şi la 19,4% dintre subiecţii la risc şi la 18% dintre normali (KRUŞININA şi col. 1975).

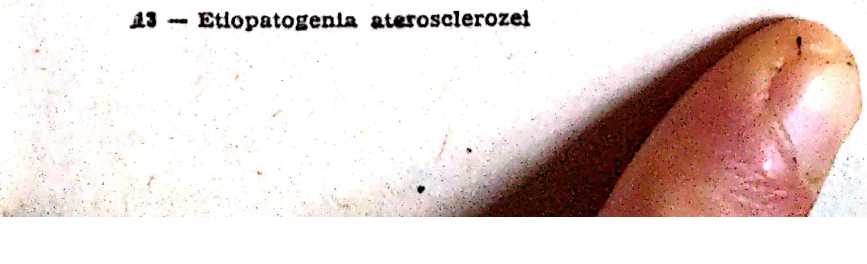
Din sinteza datelor existente în literatură se poate susţine că hiperlipoproteinemia de tipul IIA induce manifestările clinice ale cardiopatiei ischemice în jurul vîrstei de 46 ani, hiperlipoproteinemia de tip IV în jurul vîrstei de 57 ani, iar tipurile mixte IIB şi V în jurul vîrstei de 52 ani. Dacă se iau în consideraţie toate tipurile de hiperlipoproteinemii cu potenţialităţi aterogene, se ajunge la concluzia că în prezenţa hiperlipoproteinemiilor primare, manifestările clinice ale cardiopatiei ischemice apar cu aproximativ 11 ani mai devreme decît în absenţa acestor boli genetice. Tot ca o sinteză a datelor din literatură ar mai rezulta că formele letale de cardiopatie ischemică sînt de peste două ori mai frecvente în familiile cu hiperlipoproteinemii de origină genetică în comparaţie cu alte forme ale hiperlipoproteinemiilor. Aceste rezultate, ca şi constatarea existenţei unor hiperlipoproteinemii genetic transmise la 0,6—3% din populaţia neselecţionată (SMITH 1978), au pus pe prim plan importanţa studiilor de genetică în ateroscleroză. Pe baza variaţiilor cantitative şi calitative ale lipoproteinelor s-a propus chiar o „strategie a cercetărilor de genetică" în domeniul acestei boli (MOTULSKY şi BOMAN 1974), plecîndu-se de la premiza că ateroscleroza ar rezulta din interacţiunea genelor cu o mare varietate de agenţi de origină endogenă şi exogenă.

După cum am mai menţionat, caracterul cel mai aterogen este atribuit hiperlipoproteinemiilor de tipul II. Aceste boli genetice măresc de aproximativ trei ori incidenţa manifestărilor clinice ale cardiopatiei ischemice, de peste

Scanned with OKEN Scanner

două ori mortalitatea prin accidente vasculare coronariene şi induc apariţia formelor clinice ale aterosclerozei cu aproximativ 15 ani mai devreme comparativ cu subiecţii de vîrstă şi sex similare dar fără hiperlipoproteinemii (JENSEN şi col. 1967; STONE şi col. 1974). În consecinţă s-a acordat o atenţie deosebită modului în care hiperlipoproteinemiile de tipul II şi în special cele de tip IIA sînt implicate în patogenia aterosclerozei.

Hiperlipoproteinemia de tip IIA sau *hipercolesterolemia familiară* este caracterizată prin: *a*) hipercolesterolemie primară; *b*) depozite lipidice xantomatoase în piele şi tendoane; *c*) manifestări precoce ale cardiopatiei ischemice; *d*) antecedente familiare de hipercolesterolemie, xantomatoză şi manifestări precoce ale cardiopatiei ischemice. Modificările menţionate se datoresc unei boli cu caracter monogenic, toate aspectele lezionale, turburările metabolice şi manifestările clinice fiind explicate prin prezenţa unui produs anormal al unei singure gene sau prin absenţa produsului normal al respectivei gene. Efectul mutaţiei se repercută asupra metabolismului unei singure clase de lipoproteine, respectiv asupra β-lipoproteinelor. S-a susţinut că defectul principal metabolic s-ar datora unei sinteze crescute a colesterolului sau/şi unei catabolizări inadecvate, mai ales privind conversiunea colesterolului în acizi biliari. Nu s-au putut aduce însă dovezi convingătoare că în hipercolesterolemia familiară sinteza colesterolului ar fi modificată, sau că ar exista alterări semnificative ale procesului de conversiune în acizi biliari. Ulterior atenţia cercetătorilor s-a centrat asupra apoproteinei B, sugerîndu-se că înmulţirea macromoleculelor de β-lipoproteine s-ar datora unui defect de catabolizare a respectivei apoproteine. Drept urmare se consideră că paternul lipidic modificat al β-lipoproteinelor de la pacienţii cu tipul IIA de hiperlipoproteinemie ar rezulta din eliminarea prea lentă din circulaţie a macromoleculelor datorită catabolizării deficitare a apoproteinei B. În acest sens pledează observaţia că β-lipoproteinele de la un pacient cu hiperlipoproteinemie de tip IIA, introduse la un subiect normal, suferă un proces de catabolizare încadrat în limitele fiziologice. S-au adus şi argumente privind o sinteză mărită de apoproteină B, precum şi privind calea „scurt-circuitată" de formare a β-lipoproteinelor ce ar fi introduse în circulaţie fără a mai trece prin stadiul de pre β-lipoproteine. În cursul ultimilor ani se acceptă ca defect fundamental absenţa sintezei de receptori specifici pentru legarea β-lipoproteienlor, receptori prezenţi în condiţii normale pe suprafaţa fibroblastelor, limfocitelor şi celulelor musculare netede din peretele arterial. Acest defect este considerat ca rezultînd din mutaţia unei gene responsabilă de formarea receptorilor. În forma homozigotă a bolii poate exista o absenţă totală sau aproape totală a receptorilor, în cea heterozigotă lipsesc aproximativ jumătate din numărul normal de receptori. Macromoleculele de β-lipoproteină nu mai sînt fixate pe suprafaţa celulelor, nu mai pătrund prin pinocitoză în lizozomi spre a fi degradate, ci rămîn să circule continu, numărul lor crescînd astfel progresiv la valori extrem de ridicate (*fig. 47*). Procesele degradative au loc numai sub formă de pinocitoză şi fagocitoză nespecifică în macrofage din variate teritorii reticulo-histocitare, dar ritmul în care se produce degradarea este inadecvat în comparaţie cu cel de formare a macromoleculelor (BROWN şi GOLDSTEIN 1976 a, b, c). Defectul poate fi detectat încă de la naştere, valorile colesterolemiei fiind de 1,00—1,33 g/100 ml la nou-născutul cu hiperlipoproteinemie de tip IIA şi de numai 0,53—0,74 g/100 ml la nou-născutul fără hiperlipoproteinemie. Celulele din lichidul amniotic, crescute în medii de cul-



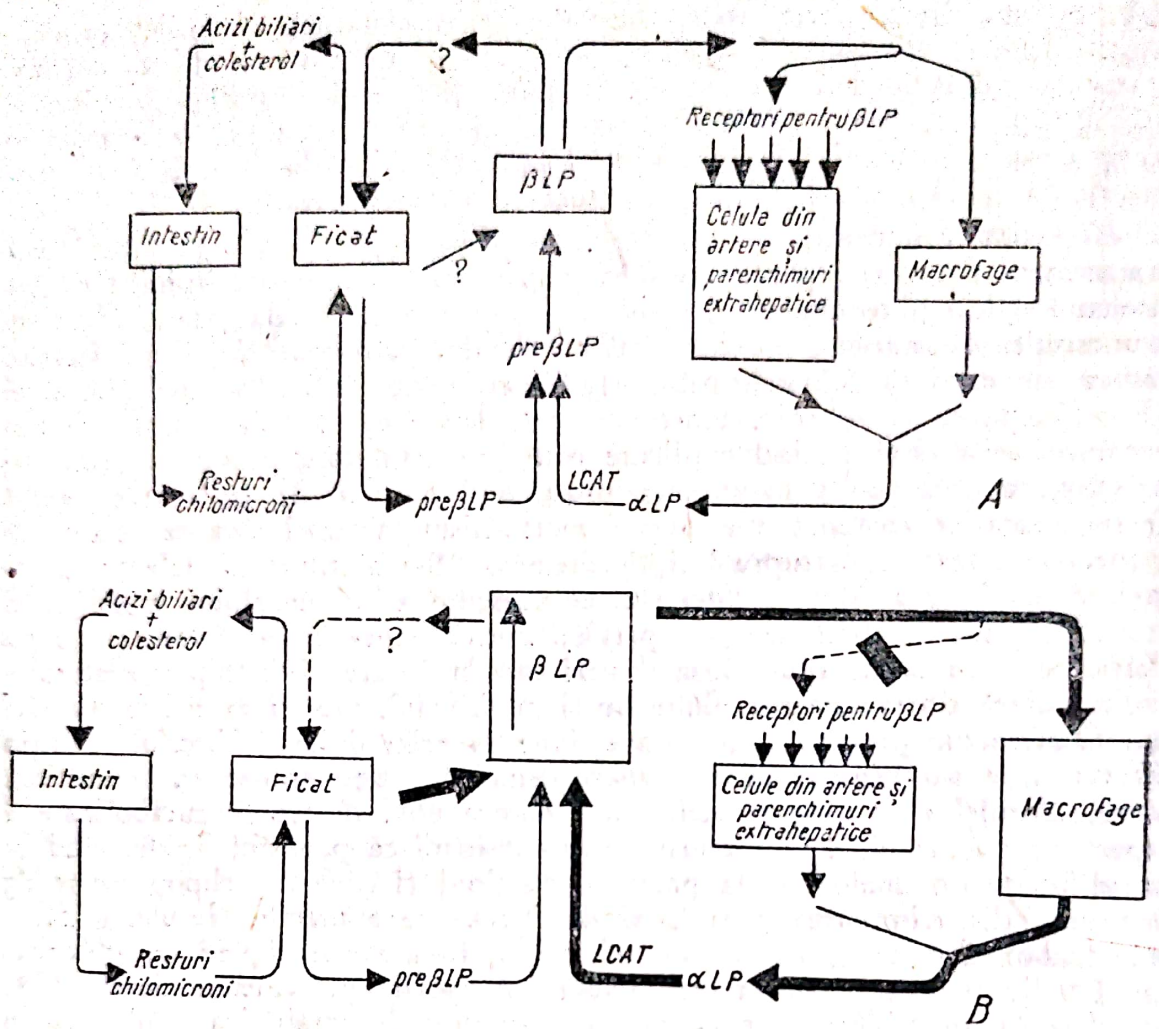


Fig. 47 Transportul și metabolismul colesterolului la subiectul normal (A) și la cel cu hipercolesterolemie familiară (B). Legendă: LP, lipoproteine; LCAT, lecitin colesterol acil transferază. De remarcat, la pacienții cu hiperlipoproteinemie de tipul II A, absența captării β-lipoproteinelor de către receptorii specifici și absența degradării consecutive a respectivelor macromolecule, datorită unui defect genetic. În consecință, β-lipoproteinele rămîn în circulație încărcînd considerabil căile sanguine și limfatice (săgețile groase). De remarcat, de asemenea, că acest defect metabolic nu influențează transportul și metabolismul colesterolului inclus în jumătatea din stînga a schemei (după GOLDSTEIN și BROWN 1978, cu permisiunea editurii The John Hopkins University Press).

tură, prezintă și ele o deficiență a receptorilor specifici pentru β-lipoproteine la fețiî cu hiperlipoproteinemie de tip IIA, captarea acestor lipoproteine reducîndu-se la numai 5% față de normal la formele homozigote și la aproximativ 50% la cele heterozigote (BROWN și col. 1978). Se poate pune astfel un diagnostic prenatal al bolii, mai ales pentru formele homozigote. Hipercolesterolemia familiară apare astfel ca o boală în care un defect genetic primar localizat la nivelul receptorilor de membrană celulară induce importante anomalii ale metabolismului și mai ales ale catabolismului β-lipoproteinelor, rezultînd o hipercolesterolemie severă cu caracter intens aterogen. Serul de la pacienții cu acest tip de hiperlipoproteinemie adăugat mediului în care cresc celule musculare netede din aortă sau din alte artere, produce o proliferare intensă a respectivelor celule, sugerînd că și în organism ar avea capa-

citatea de a potența caracterul obstructiv al leziunilor. Rata multiplicării celulelor poate crește de aproximativ patru ori și tot de atîtea ori se mărește și sinteza de ADN. Aceste efecte s-ar datora acțiunilor exercitate de macromolecula de β -lipoproteină și nu în mod particular valorilor ridicate ale colesterolemiei (ROBERTSON 1974). În mod special a fost incriminată apoproteina bogată în arginină, dar mai intervin numeroși alți factori componenți ai macromoleculei. De altfel acțiunea globală nu se reduce la creșterea ratei de multiplicare celulară, fiind potențate esterificarea colesterolului și inhibată sinteza acestui lipid, rezultînd acumulări intracelulare de esteri de colesterol. S-a mai constatat și o creștere a ratei de dispariție a celulelor musculare netede din culturi de țesuturi, ca urmare a înmulțirii numărului de elemente care ajung rapid la necroză. Menționăm și observația privind specificitatea stimulării proliferării celulelor musculare netede din peretele arterial de către serul pacienților cu hiperlipoproteinemie de tipul IIA; pus în mediul de cultură a unor celule tumorale sau netumorale, provenind din variate parenchimuri, acest ser nu are un efect stimulator similar celui exercitat asupra celulelor musculare netede din peretele arterial (ROBERTSON 1974; FISCHER-DOGZA și WISSLER 1976).

5. METABOLISMUL COLESTEROLULUI

a. SINTEZA COLESTEROLULUI LIBER

Primul pas important în cunoașterea procesului de sinteză a colesterolului a fost făcut cu patru decenii în urmă, cînd s-a demonstrat rolul acetatului ca principalul precursor (RITTENBERG și SCHONHEIMER 1937). După anul 1950, utilizarea radioizotopilor și studiile pe omogenate de organe au permis progrese rapide în cunoașterea locului unde se face sinteza și a etapelor majore ale procesului de sinteză.

O schemă foarte simplificată privind metabolismul colesterolului la om este prezentată în *fig. 48*. Conform acestei scheme (ANGELIN 1977), colesterolul din alimente se asociază celui sintetizat de peretele tubului digestiv, precum și celui eliminat în lumenul intestinal prin bilă. Din acest amestec este absorbită o cantitate variind între 30 și 50%, cantitate vehiculată prin intermediul chilomicronilor și pre β -lipoproteinelor. Cea mai mare parte a colesterolului pătruns în circulația sanguină și limfatică ajunge la ficat, care îl folosește în sinteza pre β -lipoproteinelor, a altor tipuri de lipoproteine (8—12 mmoli/zi) și a acizilor biliari (1 mmol/zi), în timp ce o cantitate de aproximativ 2,5 mmoli/zi este excretată cu bila. Schema mai evidențiază că în ficat și peretele intestinal rata sintezei colesterolului este reglată prin variațiile enzimei β -hidroxi-β-metilglutaril-CoA sintetază, reglare ce se efectuează prin mecanisme *feedback*. Principalul factor de reglare pentru sinteza hepatică pare a fi colesterolul de origină exogenă, iar pentru sinteza din peretele intestinal, sărurile biliare.

În alte modele privind metabolismul colesterolului este descris un „sistem colesterol" (CHEVALLIER 1978), în care sinteza endogenă este în echilibru cu aportul exogen, în timp ce forma esterificată are o importanță limitată doar în plasmă, ficat, piele și suprarenale. Cu excepția plasmei și ficatului, cantitățile de colesterol sînt constante în toate organele; în ficat variațiile implică doar colesterolul esterificat.

Scanned with OKEN Scanner

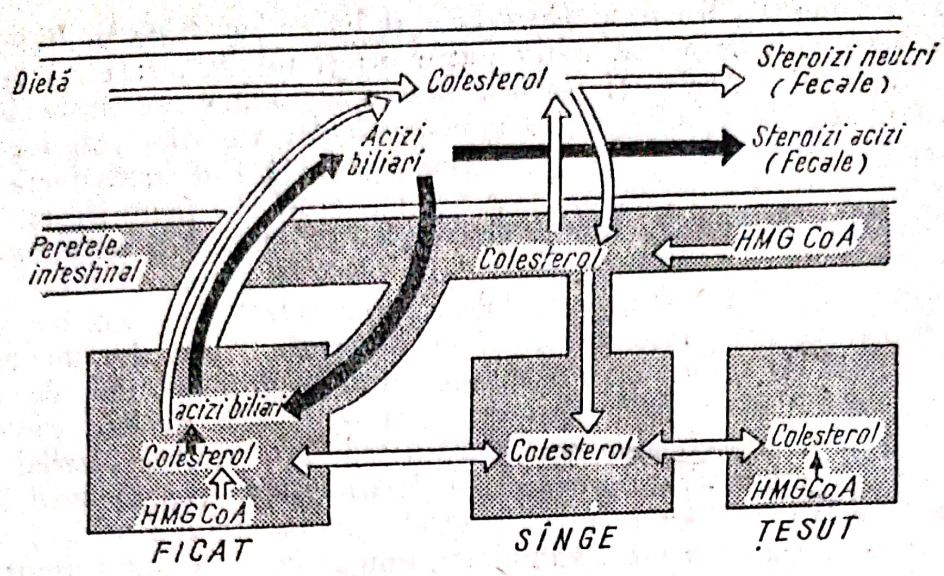


Fig. 48 Principalele etape ale metabolismului colesterolului la om (după ANGELIN, 1977 cu permisiunea editurii Almqvist-Wiksell Periodical Company, Stockholm).

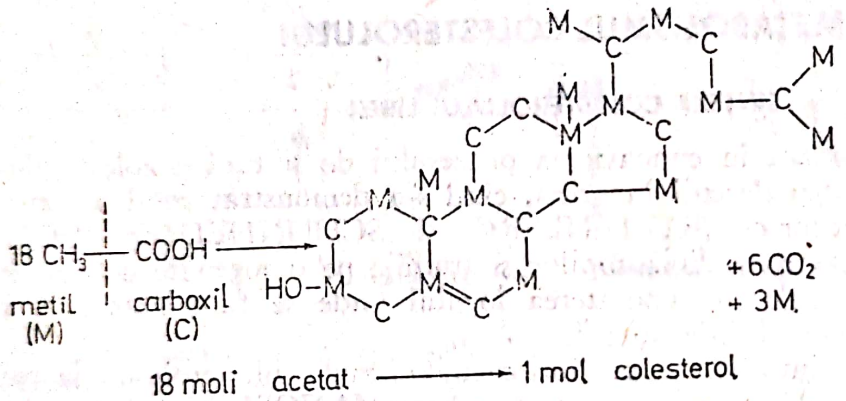


Fig. 49 Molecula de colesterol, rezultat al asamblării succesive a 18 molecule de acetat.

Ficatul este considerat principala sursă de colesterol pentru lipoproteine, etapele sintezei intrahepatice fiind schematizate în *fig. 49* și *50*. În linii mari aceste etape sînt similare și sintezei ce are loc în peretele arterial, elaborarea colesterolului fiind precedată de următoarele modificări:

din două molecule de *acetilcoenzimă A*, ia naștere acetoacetil coenzima A, reacție catalizată de o acetoacetil coenzima A-tiolază. O a doua enzimă, β-hidroxi β-metil glutaril coenzima A sintetaza (Ec 4.1.3.5), folosind o altă moleculă de acetil coenzimă A, catalizează formarea de *β-hidroxi β-metilglutaril coenzima A* sau HGM-CoA. Această reacție are loc în microzomii celulei hepatice, fiind efectuată de mai multe tipuri de izoenzime. Pînă la etapa formării compusului HGM-CoA, sinteza colesterolului este similară cu aceea a corpilor cetonici. Mai departe, ea îmbracă un aspect particular odată cu formarea *acidului mevalonic* de către enzima β-hidroxi-β-metilglutaril coenzima A reductază sau mevalonat: $NADP^+$ oxidoreductază sau HGM-CoA reductază (Ec 1.1.1.34). Apariția acestui produs intermediar implică reducerea a două molecule de NADPH. În etapa următoare, acidul mevalonic, în prezența ATP-ului, este supus acțiunii acid mevalonic kinazei (EC 2.7.1.36), rezultînd acid mevalonic 5-fosfat. Cu o altă moleculă de ATP și în prezența unei kinaze (Ec 2.7.4.2) ce acționează pe acidul mevalonic fosforilat, ia naștere compusul acid mevalonic 5-pirofosfat. Urmează o eliminare a grupărilor carboxil și hidroxil terțiare, catalizată de pirofosfo acid mevalonic decarboxilază (EC 4.1.1.33). Reacția implică prezența de ATP și generează produși intermediari fosforilați, cel mai important fiind *izopentenil pirofosfatul*. Din condensarea unităților de izopren, rezultă di și trimeri; acest proces este precedat de izomerizarea unei molecule de izopentenil pirofosfat în dimetilalil pirofosfat, reacție catalizată de izopentenil pirofosfat izomeraza (EC 5.3.3.2). Dintr-o

Scanned with OKEN Scanner

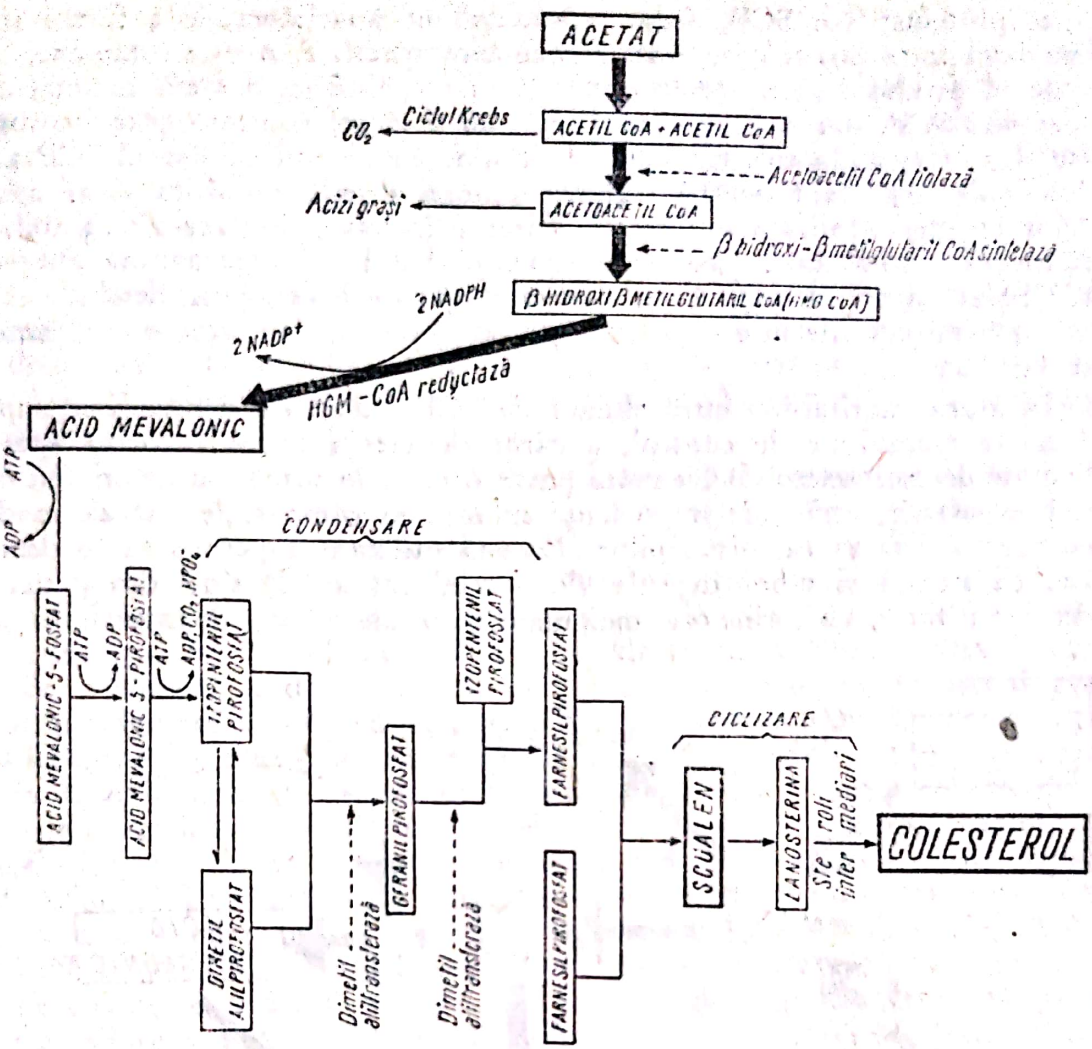


Fig. 50 Principalele etape ale sintezei colesterolului.

moleculă de dimetilalil pirofosfat şi una de izopentenil pirofosfat apare primul produs de condensare, *geranil pirofosfatul*, reacţie catalizată de o dimetilalil transferază (EC 5.2.1.1). Din condensarea geranil pirofosfatului cu o altă moleculă de izopentenil pirofosfat, reacţie catalizată tot de o dimetilalil transferază, rezultă *farnezil pirofosfatul*. Etapele ulterioare, incluzînd sinteza scualenului, lanosterinei, colesterolului şi a altor steroli intermediari, au loc la nivelul membranei reticulului endoplasmic. *Scualenul* apare din condensarea a două molecule de farnezil pirofosfat; nu se cunosc bine ce sisteme enzimatice sînt implicate. Urmează un proces fundamental pentru sinteza colesterolului: ciclizarea scualenului, cu eliminare de $(OH)^+$ şi formare de legături duble. După ciclizare, apare o dispoziţie ordonată a atomilor, începînd cu C_2, rezultînd *lanosterolul*; nici în această transformare nu sînt încă bine cunoscute implicaţiile enzimatice. În sfîrşit, se mai produc următoarele reacţii succesive, legînd modificările lanosterolului de formarea colesterolului: demetilări, izomerizări, dehidrogenări, reduceri de duble legături (KIENLE 1978). Transformarea lanosterolului în colesterol are loc în prezenţa oxigenului cu formarea de trei molecule de CO_2 pentru fiecare moleculă de colesterol sintetizată. *Scualenul* este compusul intermediar al acestei transformări cel mai des evidenţiat la om şi variate specii de animale (DALY 1971). Peretele arterial produce activ scualenul şi mai lent conversiunea lui în colesterol, datorită blocării frecvente a demetilării lanosterolului sau a altor blocade încă neidentificate.

În sinteza colesterolului sînt implicate substanţe de tip proteic apte să vehiculeze produşi intermediari de la un organit celular la altul sau la anumite distanţe în cadrul aceluiaşi organit. Cunoscute sub denumirea de „sterol

carrier proteins" sau SCP, aceste substanţe au capacitatea de a forma complexe solubile ce pot fi uşor ataşate enzimelor specifice. Aceste complexe, convertite în produsul intermediar următor, se combină cu o nouă enzimă, apoi cu un nou SCP, din nou cu o nouă enzimă şi astfel secvenţe genetic programate duc la apariţia colesterolului. Se susţine că nivelul celular al SCP ar fi tot atît de important pentru reglarea sintezei colesterolului ca şi al principalelor enzime implicate în această sinteză. În plus, SCP ar fi capabile să influenţeze şi activitatea acestor enzime, probabil prin mecanisme alosterice (DEMPSEY şi col. 1974). Acest domeniu nou de investigaţie deschide şi un drum nou de posibile intervenţii pe linia controlului medicamentos al sintezei colesterolului.

În afara cantităţilor intracelulare de SCP, colesterologeneza este supusă la variate mecanisme de control, a căror deficienţă poate favoriza apariţia leziunilor de ateroscleroză. Cu peste patru decenii în urmă s-a descris un control homeostatic, astăzi de importanţă minoră în comparaţie cu cele evidenţiate prin utilizarea radioizotopilor. Această utilizare a permis să se demonstreze că ficatul şi tubul digestiv (în special intestinul) sînt, din punct de vedere cantitativ, teritoriile cele mai importante ale colesterologenezei. În con-

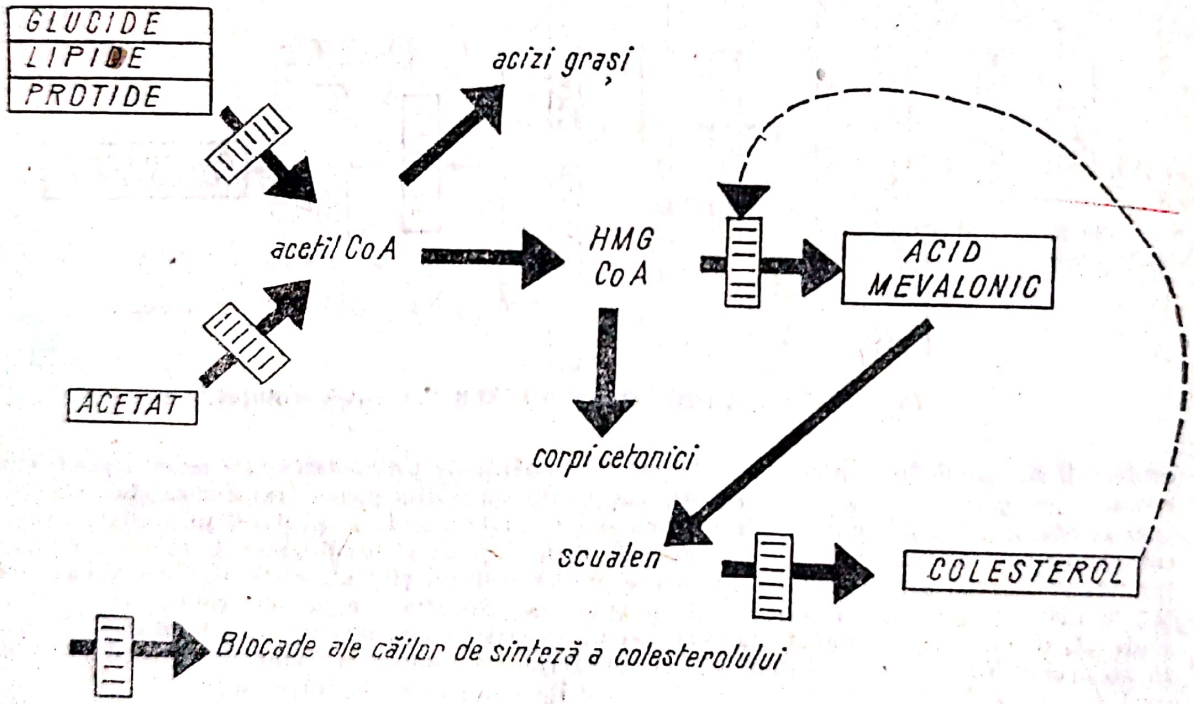


Fig. 51 Etape ce pot fi blocate în cursul sintezei colesterolului, ca şi mecanismul *feedback* negativ prin care colesterolul intervine în reglarea propriei sale sinteze. HGM-CoA, β-hidroxi β-metilglutaril coenzima A.

diţiile unui aport alimentar incluzînd cantităţi mici de lipide, sinteza hepatică devine net predominantă asupra celei intestinale, aceasta din urmă fiind parţial inhibată de continua perfuzie a intestinului cu săruri biliare. Aceste săruri blochează conversiunea β -hidroxi β -metil glutaratului în mevalonat printr-o inhibiţie „genetic programată", competitivă, alosterică a enzimei HGM-CoA reductazei. Pe de altă parte, în condiţiile unui aport alimentar bogat în

Scanned with OKEN Scanner

lipide şi mai ales în colesterol, colesterologeneza intrahepatică poate fi „dramatic" inhibată, pe cînd cea intestinală este puţin influenţată. Acest control *feedback* al sintezei hepatice a colesterolului variază ca eficienţă între diferite grupe de populaţii, fiind de peste 75% la indigenii Masai şi sub 25% la locuitorii din Statele Unite (HO şi TAYLOR 1970). Eficienţa sa este foarte mare şi la anumite animale de laborator, evidenţiindu-se, de exemplu, inhibări între 60—80% la maimuţe, 80—90% la şobolani, 90—95% la cîini etc. Din datele existente în literatură ar rezulta că omul, în general, şi anumite grupe de populaţie, în special, nu sînt eficient protejate de a face hipercolesterolemie ca urmare a unui aport mai însemnat de colesterol exogen, datorită unei deficienţe a mecanismelor *feedback* negative ce operează la nivelul ficatului. Această deficienţă se transmite genetic şi nu dispunem încă de mijloace terapeutice spre a o remedia.

Marea majoritate a autorilor susţin că principalul punct unde se exercită blocada prin intermediul căreia s-ar putea regla sinteza intrahepatică a colesterolului este conversiunea β -hidroxi β-metil glutaratului în mevalonat, prin inhibarea β -hidroxi β -metil glutaril reductazei (*fig. 51*). În condiţii fiziologice un anumit grad de blocare ar fi exercitat de „semnalul intestinal", respectiv de resturile de chilomicroni ce sînt degradate în ficat. Sinteza endogenă de colesterol scade cu cît aceste resturi sînt mai numeroase şi mai bogate în colesterol de origină exogenă. Perfuzia de chilomicroni, precum şi de pre-β-lipoproteine duce, de asemenea, la o scădere semnificativă a sintezei colesterolului în ficat. S-au obţinut blocări nete şi sub acţiunea colesterolului din β-lipoproteinele de la un subiect cu hipercolesterolemie familiară (BROWN şi col. 1975). Anumite substanţe, cum ar fi alcoolul etilic, inhibă cu aproximativ 29% activitatea enzimei, reducînd concomitent cu peste 56% şi activitatea enzimelor ce convertesc colesterolul în acizi biliari (LAKSHMANAN şi VEECH 1977). Hipercolesterolemiile rezultate din sinteze excesive de colesterol endogen nu pun în funcţiune mecanismele *feedback* negative de reglare a acestei sinteze, modelul experimental cel mai demonstrativ din acest punct de vedere fiind bazat pe administrarea de dietilstilbestrol. Din studiul modului de comportare a HGM-CoA reductazei în prezenţa sărurilor biliare a rezultat că aceste săruri pot acţiona ca inhibitori competitivi. Sărurile biliare ar bloca însă şi alte trepte ale sintezei colesterolului, de exemplu demetilarea lanosterolului, sau etapa complexă de transformări de la acid mevalonic la scualen.

Întrucît obezitatea reprezintă un factor de risc al aterosclerozei, menţionăm că şi celula adipoasă sintetizează colesterol din acetat şi mevalonat, rata fiind de 0,9 moli/gram/oră, aproximativ 2—4% din cea a celulei hepatice (KOVANEN şi col. 1975). Sinteza, catalizată tot de HGM-CoA reductază, pare a fi sub influenţa regulatoare a insulinei şi a valorilor glicemiei. În ţesutul adipos, spre deosebire de parenchimul hepatic, sinteza colesterolului nu este influenţată de aportul alimentar lipidic. Această sinteză din ţesutul adipos creşte paralel cu gradul de obezitate, pînă la valori de 20 mg/zi/kg, fiind frecvent asociată şi cu o creştere a sintezei intrahepatice. În culturi de ţesuturi inhibarea sintezei de colesterol din ţesutul adipos a fost obţinută prin adăugarea de macromolecule de pre β-lipoproteine la mediul de cultură. Aceasta ar sugera existenţa unui mecanism *feedback* negativ de reglare a sintezei prin variaţiile cantitative ale pre β-lipoproteinelor.

Peretele arterial s-a dovedit capabil să sintetizeze colesterol şi numeroşi autori susţin origina locală a colesterolului acumulat în plăcile aterosclerotice. Această sinteză locală este intensificată de stări prelungite de hipoxie, de hipertensiunea arterială, de valorile crescute ale acizilor graşi liberi. Etapele

Scanned with OKEN Scanner

formării colesterolului în peretele arterial par a fi similare celor descrise în celula hepatică, dovezile cele mai concludente rezultînd din studiile pe segmente de artere obținute de la pacienți supuși amputațiilor chirurgicale și care au fost rapid incubate cu acetat și mevalonat marcat (CHOBANIAN și col. 1968). Această capacitate de sinteză crește în zonele unde apar plăcile aterosclerotice, este potențată de insulină și diminuată de laminarin sulfat și puromicină (MURATA și col. 1967; MURATA 1969). În alte investigații capacitatea peretelui arterial de a sintetiza colesterol din precursori marcați a apărut mult inferioară celei de a reține colesterolul marcat prezent în macromoleculele de lipoproteine (SARMA și col. 1975 b). Problema mult dezbătută a originii colesterolului din leziunile de ateroscleroză va fi în continuare prezentată în subcapitolele următoare, precum și în capitolul VI.

b. ELABORAREA ACIZILOR GRAȘI NECESARI ESTERIFICĂRII COLESTEROLULUI

Rolul acizilor grași în patogenia aterosclerozei este complex, capacitatea aterogenă putînd fi corelată cu formarea esterilor de colesterol, formarea trigliceridelor, potențarea colesterologenezei intrahepatice, efecte trombozante prin modificarea funcțiilor trombocitelor, acțiuni toxice directe asupra celulelor musculare netede din peretele arterial etc. De un interes aparte în problema aterosclerozei se bucură studiul sintezei esterilor de colesterol, mulți autori considerînd acumularea acestor esteri ca mecanismul fundamental al aterogenezei.

Peretele arterial are capacitatea de a elabora acizi grași atît *de novo*, cît și prin alungire, iar apariția aterosclerozei se însoțește de o intensificare a ambelor procese. Mecanismul sintezei constă în atașarea progresivă a unor unități formate din doi carboni, reprezentînd acetilcoenzima A sau acetatul activ. Toate substanțele și condițiile care eliberează acetat pot influența rata de sinteză a acizilor grași în peretele arterial, pe primul plan fiind implicate glucidele. Conversiunea lor se efectuează după secvența următoare: glucid→acid piruvic→acetilcoenzimă A→acid gras. Glucoza poate fi degradată pe calea Embden-Mayerhof sau a șuntului pentozic. În special acest ultim tip de degradare are o importanță deosebită, deoarece apariția trifosfopiridin nucleotidului redus (TPN) este mediată prin această cale, iar TPNH-ul este un cofactor esențial în formarea acizilor grași. Drept urmare orice stimulare a șuntului pentozic accelerează lipogeneza, cu esterificarea ulterioară a colesterolului și acumulare de trigliceride. Această stimulare se produce odată cu un aport masiv de glucide prin alimentație, fiind reflectată de activitatea crescută a glucozo 6-fosfat dehidrogenazei. Excesul de calorii prin aport glucidic stimulînd folosirea șuntului pentozic reprezintă principalul mecanism de conversiune masivă a glucozei în acizi grași și trigliceride. Experimental s-a demonstrat că leziunea de ateroscleroză are o capacitate crescută de a folosi glucoza pentru sinteza de acizi grași necesari esterificării colesterolului (BJORKERUD 1970). Tot experimental s-a mai demonstrat că elaborarea unei cantități crescute de acizi grași pare a fi o caracteristică metabolică a peretelui arterial cu leziuni de ateroscleroză. Această creștere a fost atribuită dietelor bogate în colesterol care măresc sinteza de acizi grași în artere de aproximativ patru ori la iepure (WHEREAT 1966), de peste cinci ori la porumbel (LOFLAND și CLARKSON 1965) și de patru pînă la șase ori la maimuță (ST. CLAIR și col. 1968). Sinteza crescută a acizilor grași are loc numai în

Scanned with OKEN Scanner

perimetrul leziunii; de asemenea numai în perimetrul leziunii acizii graşi neoformaţi sînt încorporaţi preferenţial colesterolului rezultînd forma sa esterificată, în timp ce în ţesutul perilezional încorporarea dominantă a acizilor graşi are loc în fosfolipide şi trigliceride. Astfel, în striurile lipidice se produce o esterificare masivă a colesterolului cu acid oleic sintetizat în celula musculară netedă ce devine treptat o celulă cu protoplasmă spumoasă, în timp ce în intima din jur acest proces nu poate fi evidenţiat (St. CLAIR şi col. 1968; SMITH şi col. 1968).

În procesul de sinteză *de novo* cel mai frecvent apare acidul palmitic, rezultînd dintr-o moleculă de acetilcoenzima A şi din şapte molecule de malonilcoenzima A. Enzimele ce sintetizează acizii graşi solicită prezenţa NADH-ului, ce acţionează ca agent reductor, rata sintezei fiind dependentă de variaţiile raportului NADH/NAD$^+$, prima substanţă acţionînd ca donatoare de hidrogen. În peretele arterial normal, cea mai mare parte a NAD-ului din mitocondriile celulelor musculare netede este oxidat (NAD$^+$), iar sinteza acizilor graşi are loc într-un ritm foarte lent. Agenţii aterogeni produc o creştere a raportului NADH/NAD$^+$ prin inhibarea oxidării NADH-ului via lanţul respirator, stimulînd astfel sinteza acizilor graşi (WHEREAT 1971). Tot în acest sens acţionează şi hipoxia, sau inhibitorii citocrom oxidazei. Acidul palmitic astfel sintetizat poate deveni substrat atît pentru alungirea lanţului, cu apariţia acidului stearic, cît şi pentru alungire şi desaturare, cu apariţia acidului oleic cu care este preferenţial esterificat colesterolul.

c. ESTERIFICAREA COLESTEROLULUI LIBER

Plăcile aterosclerotice conţin cantităţi impresionante de esteri de colesterol, pînă la 90% din totalul lipidelor acumulate în leziuni. În comparaţie cu intimele normale, esterii de colesterol cresc de 30—50 ori odată cu dezvoltarea leziunilor de ateroscleroză, fiind prezenţi atît în vacuole intracelulare cît şi în mase amorfe extracelulare bogate în conţinut lipidic. Compoziţia lor chimică variază în funcţie de localizarea intra- sau extracelulară a esterilor de colesterol. *Tabelul XIII* prezintă cantităţile de acid linoleic şi acid oleic din esterii de colesterol din striurile lipidice, plăcile gelatinoase şi ateroame, comparativ cu cele evidenţiate în macromoleculele de β-lipoproteine. Din datele prezentate se poate deduce originea din β-lipoproteine a esterilor de colesterol prezenţi în plăci gelatinoase şi ateroame şi originea locală, din sinteze intracelulare, a esterilor de colesterol din striurile lipidice. În esterii de coleste-

TABELUL XIII

Proporţia de colesterol esterificat cu acid oleic şi acid linoleic în β-lipoproteine, striuri lipidice, plăci gelatinoase şi ateroame (SMITH E. B. şi SMITH 1976)

Materialul studiat	Numărul de probe	Proporţia de colesterol esterificat (%)	
		cu acid oleic	cu acid linoleic
β-lipoproteine	22	24.1	46.8
leziuni aterosclerotice:			
striuri lipidice	10	52.4	12.1
plăci gelatinoase	18	25.1	47.0
ateroame	10	25.5	39.5

Scanned with OKEN Scanner

rol proveniţi din β-lipoproteine predomină acidul linoleic, în timp ce în cei sintetizaţi intracelular predomină acidul oleic.

Se cunosc mai bine trei mecanisme de esterificare a colesterolului, două acţionînd în peretele arterial, al treilea în plasmă. Primul mecanism este bazat pe cataliza exercitată de colesterol ester sintetaza, prezentă în celula musculară netedă, mai ales la nivelul lizozomilor, incluzînd următoarele reacţii: acid gras + colesterol → colesterol esterificat + H_2O. Al doilea mecanism este bazat pe cataliza exercitată de acilcoenzima A-colesterol acil transferaza (ACCAT), în prezenţa căreia are loc reacţia: acilcoenzima A — lipid + colesterol → colesterol esterificat + coenzima A. În sfîrşit, al treilea mecanism acţionează în plasmă, bazat pe cataliza exercitată de enzima lecitin colesterol acil transferaza (LCAT): lecitină + colesterol → colesterol esterificat + lizolecitină.

Esteraze capabile să sintetizeze colesterol esterificat au fost evidenţiate în numeroase organe şi ţesuturi, precum şi în elemente sanguine circulante; dimpotrivă, enzima ACCAT nu a fost individualizată decît în ficat şi perete arterial, în timp ce LCAT este prezentă doar în plasmă. Cel mai important mecanism de esterificare la om pare a fi cel din plasmă, cantitatea de colesterol sintetizată în ficat şi intestin în decurs de 24 ore (1—3 g) fiind egală cu cantitatea de colesterol esterificată în plasmă în aceeaşi perioadă de timp. La numeroase animale de laborator esterificarea intrahepatică a colesterolului este mai importantă decît cea din plasmă. Tot numai la om aportul de colesterol exogen reduce esterificarea în plasmă şi potenţează hidroliza esterilor de colesterol în ficat, în timp ce la animalele de laborator aceste efecte sînt nesemnificative sau absente. Întrucît ficatul şi intestinul se pare că nu sintetizează β-lipoproteine, ci doar pre-β-lipoproteine, tot colesterolul sintetizat este inclus în aceste macromolecule, din al căror catabolism rezultă β-lipoproteinele. Acestea din urmă cedează colesterolul diferitelor organe şi ţesuturi, în timp ce α-lipoproteinele preiau colesterolul în exces şi îl esterifică în plasmă, transportîndu-l apoi esterificat spre ficat unde este folosit la sinteza acizilor biliari. S-a calculat că din 3 g de colesterol numai 350 mg sînt convertite în acizi biliari, iar 950 mg trec direct prin bilă în intestin şi sînt eliminate prin tubul digestiv (ANGELIN 1977).

Despre activitatea esterazelor din celulele musculare netede am prezentat unele date în capitolul III şi nu mai revenim asupra lor, limitîndu-ne în paginile care urmează asupra enzimelor ACCAT şi LCAT.

Acilcoenzima A — colesterol acil transferaza sau ACCAT (EC 2.3.1.26) este o enzimă microzomală, cu pH optim la 7,4, ce esterifică acizii graşi activaţi de coenzima A. În mod particular enzima catalizează esterificarea colesterolului cu acid oleic, proces comun leziunilor de ateroscleroză, celulelor corticosuprarenalei, celulelor glandelor interstiţiale genitale şi celulelor hepatice. În artere activitatea enzimei începe să se intensifice odată cu îngroşarea intimală, în aşa-numita „fază proliferativă" a aterosclerozei (ABDULLA şi col. 1968, 1969). Cînd apar primele leziuni, această activitate este mult potenţată, schimbîndu-se în acelaşi timp şi *pattern*-ul de esterificare. În intimele fără leziuni, peste 90% din acizii graşi sînt folosiţi pentru esterificarea fosfolipidelor şi trigliceridelor şi numai 5—10% pentru esterificarea colesterolului. Odată cu apariţia striurilor lipidice, proporţia se schimbă, crescînd de peste 50 de ori esterificarea colesterolului, în timp ce diminuă în mod corespunzător esterificarea fosfolipidelor şi a trigliceridelor. Histochimic, activi-

Scanned with OKEN Scanner

tatea enzimei poate fi evidenţiată folosindu-se ca substrat lecitină-β-(1^{14}C) acid linoleic. Enzima apare atît în intimă cît şi în medie, în protoplasma celulelor musculare netede, unde catalizează transferarea acizilor graşi de la lecitină la substratul de esterificat. Această transacilare nu mai are loc dacă în prealabil acizii graşi sînt eliberaţi din lecitină sub acţiunea unei fosfolipaze. În cursul esterificării nu s-au evidenţiat eliminări de acizi graşi liberi, iar reacţia nu necesită prezenţa de ATP sau coenzimă A, aşa cum cer esterificările dependente de consum de energie ce au loc în corticosuprarenală sau în ficat. În aorta de om rata de esterificare este de numai 0,007 μmoli colesterol esterificat/oră/mg proteină din peretele arterial în vasul fără leziuni şi de 0,065 în cel aterosclerotic (ABDULLA şi col. 1968). ACCAT foloseşte pentru esterificare atît acizii graşi sintetizaţi *de novo*, cît şi cei cu lanţuri alungite. De asemenea utilizează acizii graşi proveniţi din alimente, dar nu şi colesterolul de origină exogenă. Dimpotrivă, în ficat şi suprarenală esterificarea colesterolului exogen apare rapid. S-a sugerat că legarea acizilor graşi proveniţi din dietă de colesterolul endogen nu ar fi o esterificare propriu-zisă, ci mai curînd o reacţie de schimb între esterii de colesterol preformaţi şi acizii graşi proveniţi din plasmă. Principala sursă de schimb ar fi constituită de macromoleculele de β-lipoproteine captate de receptorii specifici ai membranei celulelor musculare netede şi pătrunse ulterior prin pinocitoză în aparatul lizozomal al acestor celule. Reamintim că aceste macromolecule sînt extrem de bogate în esteri de colesterol care reprezintă 35—40% din greutatea lor uscată. Perfuzarea cu variaţi acizi graşi marcaţi a arterelor de iepure cu leziuni de ateroscleroză experimentală a mai demonstrat intensa capacitate a celulelor cu protoplasmă spumoasă de a reţine acidul oleic pentru esterificarea colesterolului, în timp ce acizii palmitic, stearic şi linoleic erau încorporaţi în cantităţi foarte mici (BOWYER şi col. 1967). În aorta de porumbel, creşterea esterificării colesterolului cu acid oleic a fost evidenţiată după aproximativ două săptămîni de administrare a unei diete bogate în colesterol; în momentul apariţiei acestei creşteri, microarhitectura vasului păstra încă un aspect normal. La aproximativ opt luni de la începutul experimentului, rata de esterificare a colesterolului a devenit de 30—50 ori mai mare în comparaţie cu cea de la lotul ţinut la dietă standard. În aceeaşi perioadă de timp esterificarea fosfolipidelor şi trigliceridelor a crescut doar la dublu faţă de martori (St. CLAIR 1970). Şi la maimuţele ce fac ateroscleroză experimentală s-a constatat o predominanţă a esterificării colesterolului cu acid oleic în perioada apariţiei leziunilor; ca şi la porumbel, această creştere a precedat formarea striurilor lipidice (St. CLAIR şi col. 1968). Mai menţionăm că activitatea enzimelor implicate în procesul de esterificare al colesterolului în peretele arterial poate fi influenţată de tipul lipidului dominant în dietă. Cu cît acesta va conţine cantităţi mai mari de acid oleic, cu atît esterificarea va avea o rată mai înaltă (HASHIMOTO şi DAYTON 1978). Datele prezentate demonstrează că acumularea de colesterol esterificat cu acid oleic în celulele musculare ale peretelui arterial domină stadiile incipiente de dezvoltare a leziunilor de ateroscleroză experimentală. S-a sugerat un mecanism aterogenetic similar şi în histogeneza leziunilor din ateroscleroza umană (WOLINSKY şi col. 1975, 1978).

Acumularea esterilor de colesterol în peretele arterial a mai fost corelată şi cu apariţia fibrozei, susţinîndu-se că esterii ar exercita efecte sclerogene. Folosindu-se un model experimental bazat pe implantarea a variate ti-

Scanned with OKEN Scanner

puri de lipide în ţesutul conjunctiv subcutanat, s-a sugerat următoarea ordine descrescîndă a capacităţii sclerogene a esterilor de colesterol: esteri monosaturaţi > colesterolul liber > esteri saturaţi > linoleat (18:2) > linolenat (18:3) > arahidonat (20:4) (ADAMS şi col. 1971). Aceste rezultate se referă la un ţesut conjunctiv bogat în esteraze cu acţiune hidrolitică, de tipul celor existente în macrofage, mult mai eficiente în a degrada esterii de colesterol decît cele din celulele musculare netede ale peretelui arterial.

Lecitin-colesterol-acil transferaza sau LCAT (Ec 2.3.1.43) îşi desfăşoară activitatea în plasmă, acţionînd ca o lecitinază, colesterol esterază şi transferază, rezultatul acestei acţiuni fiind transferarea acizilor graşi de la lecitină la colesterolul liber. Enzina esterifică zilnic o cantitate de colesterol egală cu cea sintetizată şi inclusă în macromoleculele de pre β-lipoproteine, asigurînd concentraţia adecvată de colesterol necesară mebranelor celulare. LCAT este sintetizată în ficat, dar, aşa cum am mai menţionat, îşi exercită activitatea în plasmă, avînd ca substrat β-lipoproteinele, a căror cantitate scade dacă sînt incubate în medii unde acţionează enzima. S-a constatat că în decurs de 24 de ore de incubare a variate clase de lipoproteine de om cu LCAT, se produce o scădere a colesterolului liber din α-lipoproteine de la 0,260 micromoli/ml la începutul experimentului, la 0,065 la 24 ore; valorile corespunzătoare pentru β-lipoproteine au fost de 0,365 micromoli/ml la 0 ore şi 0,320 la 24 ore, iar pentru pre β-lipoproteine de 0,758 micromoli/ml la 0 ore şi 0,747 la 24 ore (GLOMSET 1972). α-lipoproteinele nu reprezintă numai un substrat necesar catalizei enzimatice, ci şi un vehicul pentru transportul enzimei în sîngele circulant, aşa cum a fost sugerat în *fig. 45*.

În cazurile de absenţă sau de deficienţă funcţională a enzimei LCAT, apar depuneri masive de colesterol şi fosfolipide în numeroase organe şi ţesuturi, inclusiv în peretele arterial, sub forma unor particule şi corpi osmiofili lamelari şi a unor vezicule delimitate de membrane. Sînt frecvente mai ales în protoplasma macrofagelor, putînd fi evidenţiate în toate teritoriile sistemului reticulo-histiocitar. Unele dintre aceste macrofage, cu o mare densitate a veziculelor, apar ca celule spumoase; acelaşi aspect îl prezintă şi anumite elemente musculare netede cu localizare subendotelială, în special la nivelul arterelor mari. Cantitativ, colesterolul creşte în ţesuturi de peste şapte ori, iar fosfolipidele de aproximativ patru ori, boala îmbrăcînd aspectul unei tezaurismoze (HOVIG şi GJONE 1974). S-a sugerat că macrofagele sistemului reticulo-histiocitar ar îngloba, în mod preferenţial, lipoproteine patologice rezultate prin absenţa esterificării colesterolului. În artere, macrofagele cu lipoproteine în citoplasmă sînt secvestrate în zona subendotelială unde pot da naştere la acumulări similare striurilor lipidice. Ca o consecinţă a deficienţelor de ordin genetic ale activităţii LCAT, apare în plasmă o lipoproteină anormală, denumită LP–X, putînd atinge concentraţii variind între 43 şi 250 mg/100 ml. Cantitatea acestei lipoproteine anormale scade după transfuzii, sîngele străin aducînd cu el şi enzime de tipul LCAT, apte să esterifice colesterolul (RITLAND şi GJONE 1975). În afara deficienţelor transmise genetic sau de alte origini ale enzimei LCAT s-au notat şi stări de hiperfuncţii, însoţite frecvent de apariţia hiperlipoproteinemiilor de tipul IIA.

În încheierea acestor date privind esterificarea colesterolului menţionăm evidenţierea, în plăcile aterosclerotice de la om, a unui tip particular de esterificare ce duce la formarea de esteri sterolici polari (BROOKS şi col. 1971). Polaritatea este dată de funcţia acil şi dispare după acetilare. Anumiţi esteri

Scanned with OKEN Scanner

polari au fost identificați ca monoesteri de hidroxicolesterol, o parte a colesterolului fiind esterificată cu hidroxi-acizi. În ateroame ar fi prezent acidul 9—13 dihidroxioctadecadienoic, în cantitate de 89 micromoli/g; această cantitate crește de patru-cinci ori în ateroamele ulcerate (HARLAND și col. 1971). Esterii de colesterol menționați nu ar fi prezenți în striuri lipidice ci numai în leziunile avansate de tipul plăcilor și ateroamelor. Sînt considerați produși de mare toxicitate, a căror concentrare progresivă ar determina, cel puțin în parte, evoluția leziunilor spre forme necrozate și ulcerate.

6. RELAȚIA COLESTEROL–LEZIUNE DE ATEROSCLEROZĂ

Deși colesterolul se acumulează frecvent în variate tipuri de granuloame cu caracter specific sau nespecific, în masa cazeoasă a leziunilor de tuberculoză, în gome sifilitice și în numeroase alte leziuni, prezența sa în striurile lipidice și plăcile aterosclerotice a trezit un interes deosebit, atribuindu-i-se o semnificație etiopatogenică particulară. În consecință studiul etapelor pătrunderii colesterolului pînă în straturile profunde ale intimei și modul cum este depozitat a atras, de mai multe decenii, un mare număr de cercetători.

Calculîndu-se fluxul de colesterol marcat prin intima aortei de porc, după formula

$$\frac{(\text{colesterol}) \times 60 \times (^{14}\text{C medie})}{\text{suprafața membranei} \times \text{timpul} \times (^{14}\text{C intimă})}$$

s-a ajuns la concluzia că acest flux este de 9 ± 6 μg/oră/cm² putînd crește sub acțiunea descărcărilor de adrenalină la 35 ± 26 μg/oră/cm² și diminua sub acțiunea dinitrofenolului la 5 ± 3 μg/oră/cm² (EDWARDS și SMITH 1972). La animalele mici de laborator, rata de transfer a colesterolului prin endoteliu a fost găsită de 0,5 μg/oră/cm², sugerînd că aproximativ 2/3 din cantitatea acumulată în leziunile de ateroscleroză experimentală ar proveni din lipoproteinele ce traversează endoteliul.

Raportul colesterol liber / colesterol esterificat, care este de 1/3 în lipoproteinele din clasa β, nu se menține ca atare în cursul trecerii prin endoteliu, devenind 1/1 (NEWMAN și ZILVERSMIT 1962, 1966). Modificarea raportului, împreună cu creșterea exponențială a cantității de colesterol din leziuni, demonstrată în numeroase lucrări, pledează împotriva unei simple filtrări ca mecanism primar de acumulare a colesterolului. În plus, s-a demonstrat că rata pătrunderii în peretele arterial și rata reținerii colesterolului depășesc pe aceea a eliminării de două-trei ori, sugerînd un *turnover* scăzut și o degradare inadecvată.

Suprafața intimală a aortei normale, incubată într-un mediu conținînd lipoproteine marcate, captează colesterol liber pînă la valori maxime de 13 μg/zi/cm² (DAYTON și HASHIMOTO 1966). În mediul de incubare cu concentrația colesterolului similară valorilor colesterolemiei considerată normală, captarea a fost de aproximativ 8 μg/zi/cm², nemodificîndu-se în peretele aortic ținut în prealabil în apă clocotită. Aceste rezultate sugerează schimburi fizico-chimice mai curînd decît activitate metabolică, în același sens pledînd și nemodificarea ratei de pătrundere a colesterolului după blocarea activităților enzimatice prin variați toxici celulari.

Din datele existente în literatură, obținute pe modele experimentale variate și cu tehnici diferite, se poate deduce existența unei corelații între nivelul presiunii intraluminale și rata de pătrundere a colesterolului în intima arterelor. Această pătrundere crește exponențial cu ridicarea presiunii sistolice, date amănunțite în legătură cu acest subiect fiind prezentate în capitolul II. Rata de pătrundere a colesterolului mai este semnificativ influențată și de integritatea structurală a endoteliului, crescînd de 10—15 ori în zonele erodate.

La om, studii bazate pe folosirea radioizotopilor au evidențiat o rată foarte scăzută de influx a colesterolului din plasmă în peretele arterial, între

Scanned with OKEN Scanner

0,065 și 0,46 mg/g/zi. Același influx redus a fost detectat și în placa de aterom. Deoarece acumularea în leziuni poate dura mai mulți ani, se sugerează existența unor alternanțe de flux și de reflux. După administrare de colesterol marcat la subiecți supuși unor intervenții chirurgicale din care au rezultat fragmente de artere, sau la subiecți în stări precomatoase, la care s-a efectuat ulterior examenul necropsic, s-a putut evidenția: la 2—4 zile de la administrare, activitatea specifică a colesterolului marcat prezent în aterom constituia numai 0,3—4,5% din activitatea specifică sanguină iar la 17—27 zile 6—20%. Echilibrarea radioizotopilor din sînge și peretele arterial s-a produs după 61—90 zile (JAGANNATHAN și col. 1974). În aterom, straturile superficiale s-au echilibrat mai repede decît cele profunde. Rata de influx în aceste leziuni a variat între 0,065 și 0,274 mg/g/zi, iar timpul de înjumătățire a fost de 442 zile în aorta abdominală și arterele coronare, 580 zile în artera iliacă comună, 321 zile în artera femurală și 934 zile în artera carotidă (JAGANNATHAN și col. 1974). Aceste rezultate indică existența unui schimb foarte lent, dar totuși evident, de colesterol între plasmă și leziunea de ateroscleroză. Ar mai rezulta că există, în aterom, variate tipuri de depozite de colesterol, fiecare cu un *turnover* aparte; în plus există și *pool*-uri inerte din punct de vedere metabolic, incluzînd în special esterii de colesterol și cristale de colesterol. Observația privind existența unei anumite corelații între valorile colesterolemiei și acumulările intralezionale pledează pentru continuarea efortului de a menține nivelul colesterolemiei la valori cît mai coborîte cu ajutorul dietei și medicației hipolipemiante.

S-a menționat în repetate rînduri, în capitolele anterioare, precum și în acest capitol, existența în celulele musculare netede din intimele îngroșate a unor receptori specifici pentru legarea β -lipoproteinelor. Complexul lipoproteină-receptor se invaginează, formează o veziculă de pinocitoză care pătrunde spre interiorul celulei, fuzionînd cu veziculele lizozomale. Acumulările intracelulare de lipide apar nu numai sub aspectul veziculelor, ci și al incluziilor, particulelor globulare, corpilor mielinici, formațiunilor birefringente la lumină polarizată, granulelor dublu refractile, globulelor anizotrope, sferocristalelor anizotrope, sferocristalelor fluide, sferulitelor paracristaline etc. Cele mai multe dintre aceste formațiuni reflectă prezența colesterolului într-o stare intermediară între solid și lichid, denumită mezofază. În mezofază persistă anumite organizări particulare stării solide, dar apar și proprietăți fizico-chimice ale lichidelor (STEWART 1961). Mezofaza ar rezulta din acțiunea fosfolipidelor asupra colesterolului, fapt confirmat de observații *in vitro;* în mediul apos, fosfolipidele apar cu configurații variate, iar adăugarea de colesterol duce în mod invariabil la formarea de micelii globulare cu organizare regulat lamelară de tipul corpilor mielinici. La microscopul electronic, unele dintre aceste formațiuni globulare sînt similare cu cele prezente în protoplasma celulelor musculare netede sau celulelor spumoase din peretele arterial. În special din amestecul lecitină — colesterol se pot obține globule alcătuite din lamele concentrice, bistratificate, avînd periodicități regulate de 40—60 Å. Benzile negre ale structurii lamelare ar reprezenta faza apoasă, incluzînd grupările polare ale fosfolipidelor; benzile clare ar include colesterolul liber și esterificat, legat de zonele hidrofobe ale fosfolipidelor (WELLER 1966). *In vivo*, în același model de organizare macromoleculară, faza apoasă include atît fosfolipide cît și proteine fiind sediul activităților enzimatice care esterifică colesterolul și degradează colesterolul esterificat. În funcție de compoziția chimică a mixturilor și

Scanned with OKEN Scanner

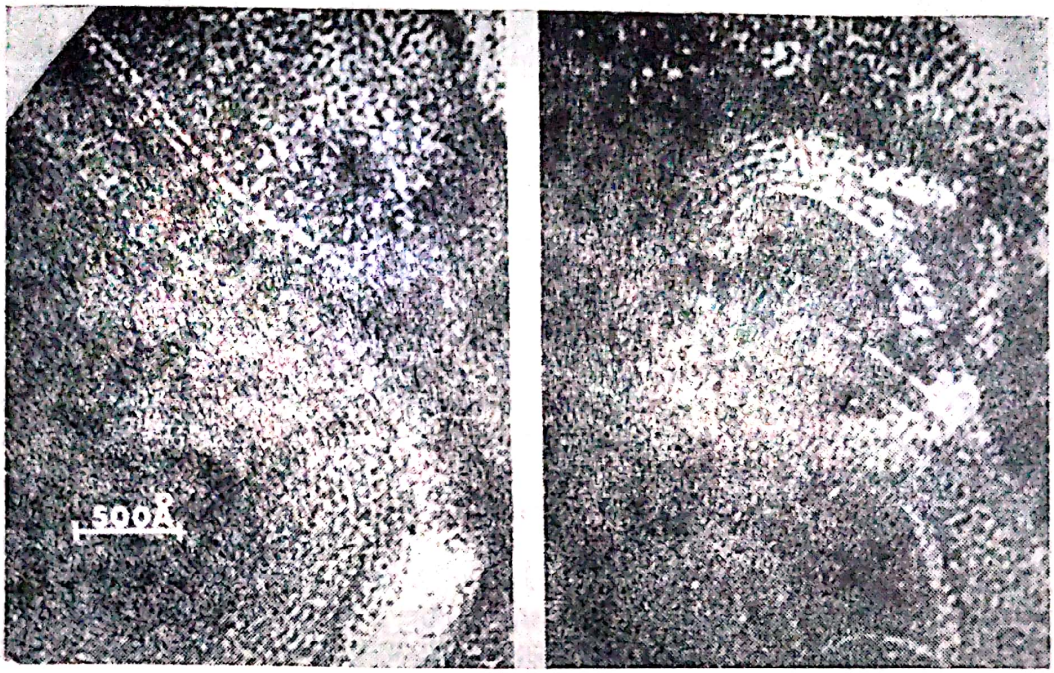


Fig. 52 Aspectul electronomicroscopic al lipidelor intracelulare; după colorații negative, structura lamelată de tip mielinic apare cu o periodicitate de aproximativ 55 Å, incluzînd benzi clare și întunecate, fiecare avînd o grosime de aproximativ 27 Å, ×300 000 (după WELLER, 1966, cu permisiunea editurii Associated Scientific Publishers- Elsevier, Amsterdam).

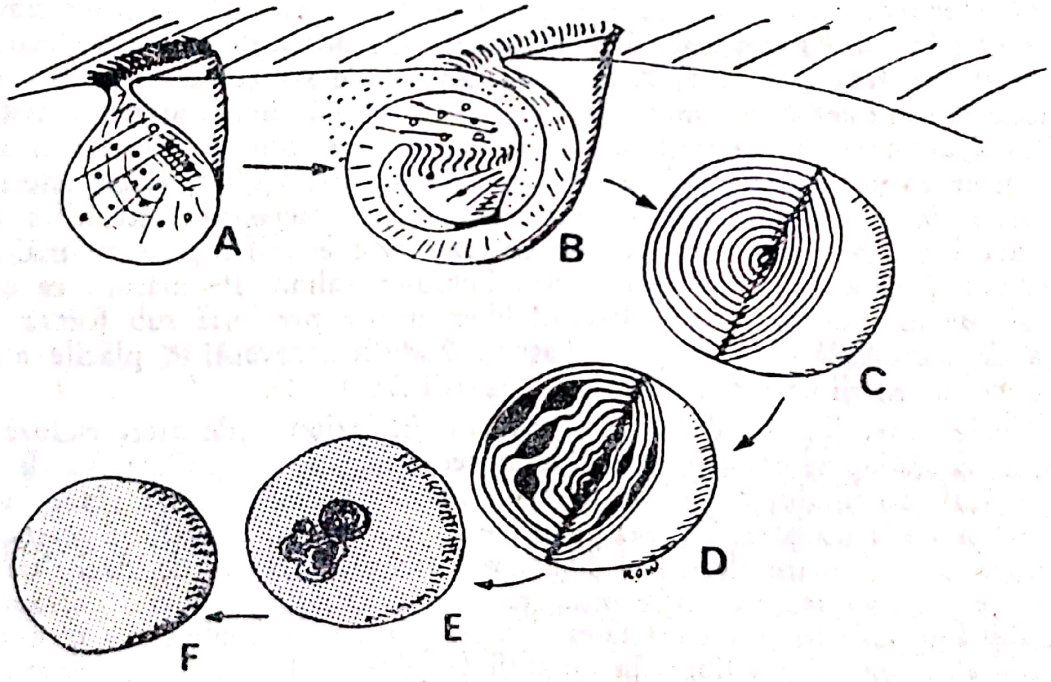


Fig. 53 Prezentare schematică a secvențelor care duc la formarea vacuolelor lipidice intracelulare în leziunile aterosclerotice. A, invaginarea membranei celulare sub aspectul unei vezicule de pinocitoză. B, dezvoltarea unei prelungiri citoplasmice, bogată în fosfolipide. C, formarea unui conținut lichid-cristalin, incluzînd fosfolipide și colesterol liber și apărînd sub aspectul unui corp mielinic lamelat. D, formarea esterilor de colesterol, reprezentați ca un material amorf dispersat între lamelele corpului mielinic. E, dispariția parțială a fosfolipidelor și colesterolului liber și înlocuirea lor progresivă prin esteri de colesterol. F, veziculă cu conținut amorf conținînd numai esteri de colesterol (după WELLER, CLARK și OSWALD, 1968, cu permisiunea editurii Associated Scientific Publishers-Elsevier, Amsterdam).

Scanned with OKEN Scanner

de fixatorul utilizat, s-au descris diferite periodicităţi ale lamelor, în *fig. 52* fiind prezentată o periodicitate de aproximativ 55 Å, obţinută după separarea lipidelor din omogenatul de aortă prin centrifugare cu sucroză, urmată de coloraţia negativă.

S-a sugerat că aceste formaţiuni globulare rezultă din invaginarea intracitoplasmică a membranei suprasaturate cu colesterol, conţinînd în plus o mare cantitate de fosfolipide sintetizate de celulă. Aspectul electronomicroscopic dominant ar fi cel de corp mielinic. Pe măsură ce se acumulează cantităţi tot mai mari de colesterol esterificat, corpul bilamelar devine tot mai omogen, aşa cum apare schematizat în *fig. 53*. Trecerea de la vezicula cu structură bilamelară spre cea cu conţinut amorf ar reflecta esterificarea progresivă a colesterolului liber în interiorul veziculei sau/şi acumularea progresivă a colesterolului esterificat. Cînd această evoluţie atinge un stadiu avansat, celula musculară netedă din intimele îngroşate ia aspect de celulă cu protoplasmă spumoasă (WELLER 1966). În final, esterii de colesterol apar ca forma dominantă a tezaurizării lipidice, sub aspectul unor incluzii sferice, cu diametre medii de $1{,}99 \pm 0{,}48$ şi $2{,}16 \pm 0{,}62$ nm (HATTA şi col. 1974). În alte investigaţii asupra particularităţilor fizico-chimice ale depunerilor de colesterol în leziunile de ateroscleroză s-a ajuns la concluzii apropiate privind rolul interrelaţiilor lipid-lipid şi a compoziţiei chimice a lipidelor în histogeneza şi evoluţia acestor leziuni. Se susţine existenţa a trei faze distincte, ce apar succesiv cu cît leziunea evoluează spre forme mai severe. Prima fază include interrelaţii lipid-lipid de tipul celor existente în membranele celulare, cu raport fosfolipide / colesterol în jur de 1, permiţînd solubilizarea atît a colesterolului liber, cît şi a celui esterificat. Rolul principal în procesele de solubilizare în această primă fază pare a fi jucat de lecitină şi de sfingomielină. Dacă acumularea de colesterol continuă, raportul se modifică în favoarea colesterolului şi apare tendinţa la cristalizare; evitarea acestei cristalizări se realizează prin formarea de vezicule lipidice în care concentraţia fosfolipidelor este mult mai mare decît în membrane. În aceste vezicule caracteristice striurilor lipidice, are loc o acumulare progresivă de colesterol esterificat ce nu mai este solubilizat şi care se separă într-o fază lichid-cristalină. Pe măsură ce unele vezicule devin saturate şi cu colesterol liber, acesta precipită sub forma cristalină de monohidrat de colesterol, aspect întîlnit frecvent în plăcile aterosclerotice cu centrii necrotici (SMALL şi SHIPLEY 1974).

Nucleul sterolic al colesterolului pătruns în leziunile de ateroscleroză nu poate fi degradat de celulele musculare netede, nici de macrofage sau de alte elemente ale sistemului reticulo-histocitar; eliminarea lui se poate face numai prin schimb sau transfer. În ceea ce priveşte colesterolul esterificat acesta are o inerţie şi mai mare decît cel liber, reprezentînd forma de depozitare a substanţei respective. În consecinţă, eliminarea sa din leziune impune în prealabil hidroliza în colesterol liber şi acizi graşi, cu schimbul sau transferul ulterior al colesterolului liber. În condiţii fiziologice, la un individ cîntărind 70 kg, peste 60% din colesterolul prezent în ţesuturi are un *turnover* foarte lent sau chiar absent. *Pool*-ul de schimb se reduce la cel mult 20% din totalul colesterolului depozitat şi el scade progresiv cu înaintarea în vîrstă, explicîndu-se astfel tendinţa de acumulare a colesterolului la bătrîni în artere, tendoane, fascii şi sinoviale. Aceste acumulări nu au un caracter patologic, deşi din punct de vedere cantitativ pot fi mai mari decît cele din leziunile de ateroscleroză. Apariţia lor reflectă o reducere progresivă, cu înaintarea în

Scanned with OKEN Scanner

vîrstă, a capacității de hidroliză a esterilor de colesterol și de schimb sau transfer a colesterolului liber (KRITCHEVSKY 1978 a). Acesta reprezintă unul dintre mecanismele prin care vîrsta este implicată ca factor de risc al aterosclerozei. Asupra aceluiași mecanism intervin însă și alți factori de risc, în primul rînd valorile colesterolemiei. Experimental, dietele bogate în colesterol potențează activitatea esterazelor care sintetizează esterii de colesterol în celulele musculare netede sau în elemente cu protoplasma spumoasă, rezultînd o creștere considerabilă a raportului sinteză/hidroliză și implicit a acumulării esterilor de colesterol în leziune (KRITCHEVSKY și col. 1974). La rasa de porumbei Show Racer, rezistentă la ateroscleroza spontană și experimentală, raportul sinteza / hidroliza esterilor de colesterol a fost evidențiat a fi de 0,73 indicînd o predominanță a hidrolizei asupra sintezei, reflectată de absența depunerilor intraarteriale. La rasa de porumbei White Carneau, susceptibilă atît la ateroscleroza spontană cît și la cea experimentală, acest raport a fost de 1,21, indicînd o predominanță a sintezei asupra hidrolizei, reflectată de acumulările progresive de esteri de colesterol în arterele mari (KRITCHEVSKY și KOTHARI 1973). Valorile acestui raport sînt condiționate genetic la ambele rase de porumbei. Mai menționăm că după ligatura parțială a aortei de iepure sub emergența arterelor renale, s-a evidențiat o reacție proliferativă a celulelor musculare netede, asociată cu o scădere a activității hidrolazelor apte a degrada esterii de colesterol (MICHOWITZ și col. 1977). Drept urmare unele dintre celulele musculare au început să prezinte vacuole lipidice în citoplasmă și să se transforme în elemente cu protoplasmă spumoasă. Și în alte investigații se menționează diminuarea capacității de hidroliză a esterilor de colesterol în perioada cînd celulele musculare netede din intimă încep să prolifereze spre a forma țesutul conjunctiv intimal. S-a mai constatat că activitatea esterazelor cu acțiune hidrolitică este influențată și de compoziția în microelemente a dietei. Astfel, cuprul și zincul sub formă cationică au produs o inhibare, efectul zincului fiind foarte pronunțat; hidroliza a fost de asemenea inhibată de ionii de mercur (KOTHARI și KRITCHEVSKY 1978).

7. ÎNCERCĂRI DE TERAPEUTICĂ PATOGENICĂ

Utilitatea acestor încercări a fost sugerată de observații cu valoare de adevărat experiment, obținute în cursul celui de al doilea război mondial, cînd incidența manifestărilor clinice ale aterosclerozei a scăzut considerabil la populații supuse timp mai îndelungat restricțiilor alimentare. Pe de altă parte, dezvoltarea economică postbelică s-a asociat cu o creștere considerabilă a acestor manifestări clinice, dominate de „epidemia" de infarcte de miocard ce continuă încă. Mai pledează pentru utilitatea acestor încercări numeroase observații privind dinamica manifestărilor clinice ale aterosclerozei la populații migratoare, trecerea de la o dietă săracă în colesterol și grăsimi saturate la o dietă bogată în respectivele lipide asociindu-se cu apariția unui număr crescut de accidente vasculare coronariene. În sfîrșit, argumente în sprijinul încercărilor de terapeutică patogenică au fost aduse și de vastul studiu denumit „International Atherosclerosis Project" sub egida OMS, bazat pe examenul anatomopatologic a peste 25 000 cazuri (McGILL 1968). Acest studiu a evidențiat existența unor plăci aterosclerotice mai numeroase și mai

Scanned with OKEN Scanner

severe la populațiile ce consumă diete hipercalorice, bogate în colesterol și grăsimi saturate, în comparație cu populațiile ce consumă diete hipo- sau normocalorice. Pe de altă parte însă nu s-au putut stabili astfel de corelații atunci cînd au fost luate în considerație cazuri individuale, rezultatele avînd o anumită valabilitate numai pentru grupe mari de populații (SCRIMSHAW și GUZMAN 1968).

Din datele existente în literatură, se poate afirma că încercările de terapeutică patogenică în ateroscleroză, bazate pe folosirea dietei și medicației hipolipemiante au dus la unele rezultate pozitive de valoare modestă și la numeroase rezultate neconvingătoare sau negative. Singurele date încurajatoare publicate în cursul ultimilor două decenii aparțin unui grup de cercetători din Finlanda (The Finnish Mental Hospital Study). Investigațiile au fost efectuate în perioada 1959—1971 în două spitale de boli mintale din Helsinki, obținîndu-se prin înlocuirea colesterolului și grăsimilor saturate din alimentație cu ulei de soia o scădere cu 15% a valorilor colesterolemiei și o reducere cu 53% a mortalității prin cardiopatie ischemică la bărbați, cu 34% la femei și cu 11% a mortalității în general (TURPEINEN 1977). Valabilitatea acestor rezultate este însă contestată datorită condițiilor particulare în care au trăit pacienții din spital. Analizîndu-se modul în care medicația hipolipemiantă a influențat evoluția cardiopatiei ischemice în studiul de la Framingham, s-a ajuns la concluzia că dacă la 100 de subiecți de sex masculin se reduc valorile colesterolemiei de la 310 la 260 mg/100 ml, începînd de la vîrsta de 35 ani, vor beneficia de această reducere doar 6 care pot fi siguri că nu vor face infarct de miocard înaintea vîrstei de 55 de ani; restul de 94 nu au nici un avantaj aparent de pe urma scăderii valorilor colesterolemiei (WHYTE 1975).

Patologia comparată a aterosclerozei a adus și ea numeroase date care pun sub semnul întrebării relația dintre colesterol și grăsimi saturate, pe de o parte și incidența aterosclerozei, pe de altă parte. Astfel, mamifere ca balena, foca și morsa, sau păsări ca pinguinul, care consumă numai grăsimi nesaturate de pește, considerate ca antiaterogene, fac frecvent plăci spontane de ateroscleroză pe aortă, cu bogat conținut lipidic. Apar leziuni de ateroscleroză spontană și la maimuțe vegetariene, cu valori ale colesterolemiei sub 100 mg/100 ml, precum și la numeroase ierbivore.

Cu rezervele menționate, vom încerca, în paginile care urmează, să discutăm eficiența mijloacelor de care dispunem la ora actuală în scopul instituirii unui tratament patogenic al aterosclerozei.

a. DIETA

Rolul dietei ca factor de risc al aterosclerozei a mai fost discutat în primul capitol; în cursul ultimilor ani interesul a fost extins de la valorile colesterolemiei și ale raportului acizi grași saturați / nesaturați, la un cadru mai larg, incluzînd cantitatea și natura glucidelor, raportul proteine animale / vegetale, duritatea apei, prezența și concentrația anumitor oligoelemente etc.

Spre a discuta cu date concrete modul cum a evoluat relația dintre dietă și incidența cardiopatiei ischemice, prezentăm în *tabelele XIV* și *XV* situația existentă în Statele Unite între anii 1909—1974 (KRITCHEVSKY 1976, 1977). În 1909 infarctul de miocard era o raritate, așa cum rezultă din protocoalele necropsiilor care au rămas, în linii mari, la același tip de formulare.

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL XIV

Evoluţia alimentaţiei în Statele Unite în perioada 1909–1974, cu particularităţile dietei pe cap de locuitor (KRITCHEVSKY 1976)

Ani	Calorii	Proteine totale		Glucide (g)	Lipide totale		Acizi graşi (g)		
		(g)	A/V		(g)	A/V	sat.	18:1	18:2
1909–1913	3490	102	1.06	492	125	4.88	50.3	51.5	10.7
1925–1929	3466	94	1.20	476	135	2.69	53.3	55.2	12.5
1935–1939	3270	90	1.27	430	135	2.85	52.9	54.5	12.7
1947–1949	3230	95	1.78	403	141	2.88	54.4	58.0	14.8
1957–1959	3140	95	2.06	374	143	2.41	54.7	58.2	16.6
1965	3160	96	2.19	371	145	1.94	53.9	58.8	19.1
1972	3320	101	2.37	381	158	1.64	55.9	63.1	23.3
1974	3350	101	2.26	388	158	–	56.0	62.9	24.2

A/V, raportul dintre proteinele sau lipidele de origină animală (A) şi vegetală (V); sat = acizi graşi saturaţi.

TABELUL XV

Studiu comparativ asupra componentelor dietei, pe cap de locuitor, în 1909 şi 1972, în Statele Unite (KRITCHEVSKY 1977)

Componentele dietei	1909	1972	modificări %
Calorii	3490	3320	−5
Proteine (g)	102	101	
animale/vegetale	1.06	2.37	+124
Glucide (g)	492	381	−23
amidon / zaharuri simple	2.15	0.89	−59
Lipide (g)	125	158	+26
animale / vegetale	4.88	1.64	−66
acizi graşi (g)			
saturaţi	50.3	55.9	+11
oleic	51.5	63.1	+23
linoleic	10.7	23.3	+118

Restudierea acestor protocoale pe intervalul de timp 1909—1915 a permis să se constate descrierea a numeroase infarcte renale, splenice şi cerebrale, dar nu şi a infarctelor de miocard. Chiar dacă din punct de vedere clinic, simptomatologia acestor infarcte putea fi codificată sub un alt diagnostic, este greu de admis că din punct de vedere anatomopatologic prezenţa infarctelor a trecut neobservată şi nemenţionată în protocoale. În 1976, numărul acestor infarcte ajunsese în Statele Unite la 1 200 000 pe an, dintre care aproximativ jumătate cu evoluţie fatală, creşterea, după cel de al doilea război mondial fiind de peste 10% pe an. În ce măsură această „epidemie" de infarcte poate fi corelată cu schimbarea modului de alimentaţie? Aşa cum rezultă din tabelele menţionate, între 1909 şi 1974 consumul lipidelor în general a crescut cu 26%, dar aceasta pe seama utilizării mai largi a grăsimilor vegetale nesaturate, a căror folosire în prepararea alimentelor s-a mărit cu 181%, în timp ce grăsimile saturate au scăzut cu 7%. Drept urmare raportul lipide nesaturate / lipide saturate care era de numai 0,21 în 1909 s-a ridicat la 0,43 în

Scanned with OKEN Scanner

1974, ceea ce ar indica o tendință antiaterogenă în modul de preparare a alimentelor, în contrast cu creşterea dramatică a infarctului de miocard. Colesterolul consumat zilnic a fost de 509 mg pe cap de locuitor în perioada 1909—1913, ajungînd la 556 mg în 1970, după ce în anii 1957—1959 a atins nivelul cel mai ridicat de 578 mg pe zi. Aceste variaţii mici cantitative nu au nici o semnificaţie din punct de vedere al patogeniei aterosclerozei. De altfel nici în studiul de la Framingham nu a rezultat o corelaţie între cantitatea de colesterol ingerată zilnic şi incidenţa cardiopatiei ischemice, frecvenţa infarctelor de miocard fiind similară la cei ce ingerau 400 sau 700 mg colesterol pe zi (KANNEL şi GORDON 1970). Revenind la tabelele XIV şi XV, se poate constata o scădere a consumului de colesterol de la 578 mg la 556 mg pe zi în perioada 1959—1970; în acelaşi interval de timp incidenţa infarctelor de miocard a crescut de la 130/100 000 la 355/100 000. În Republica Federală Germană, deşi consumul de colesterol şi grăsimi saturate s-a redus, incidenţa infarctelor de miocard a crescut de cinci ori în perioada 1952—1964, iar între anii 1967—1977 s-a dublat (SCHETTLER 1977). În Iugoslavia, rata deceselor prin cardiopatie ischemică a crescut în ultimele două decenii de aproape patru ori, deşi grăsimile saturate şi colesterolul au fost reduse din alimentaţie cu peste 25%. Un studiu limitat la bărbaţii între 55 şi 59 ani, menţionează o rată de mortalitate de 750/100 000 locuitori în Statele Unite, cu media ingerării de colesterol de 600 mg pe zi; 680/100 000 în Finlanda cu media ingerării de colesterol de numai 310 mg pe zi şi 140/100 000 în Franţa, cu media ingerării de colesterol de 350 mg pe zi (CONNOR şi CONNOR 1972; KRITCHEVSKY 1976). Nici cantitatea de calorii din diete nu permite să se facă corelaţii mai precise; în Statele Unite, în 1909 cînd erau probabil foarte puţine infarcte de miocard se consumau doar cu 5% calorii mai puţin pe cap de locuitor decît în 1972 cînd au existat 1 000 000 de infarcte. O cercetare de mari proporţii, incluzînd 30 de ţări, nu reuşeşte, de asemenea, să stabilească corelaţii clare între numărul de calorii din dietă şi incidenţa cardiopatiei ischemice (ARMSTRONG şi col. 1975). Ar mai fi de menţionat, revenind la tabelele XIV şi XV că deşi cantitatea de proteine nu s-a modificat în perioada 1909—1974, s-a dublat raportul proteine animale / proteine vegetale. Semnificaţia acestei modificări este din ce în ce mai des subliniată, numeroase cercetări experimentale demonstrînd posibilitatea producerii leziunilor de ateroscleroză cu diete lipsite de colesterol, dar bogate în proteine animale. Se subliniază, de asemenea, că în Statele Unite creşterea incidenţei cardiopatiei ischemice poate fi cel mai bine corelată cu mărirea raportului proteine animale / proteine vegetale în alimentaţie (KRITCHEVSKY 1976, 1977). În sfîrşit, în ceea ce priveşte glucidele, se constată o diminuare între 1909 şi 1974 a consumului cu 23%, diminuare care contrastează cu creşterea dramatică a incidenţei infarctului de miocard. Trebuie însă menţionat că în aceeaşi perioadă de timp raportul amidon / zaharuri rafinate a scăzut cu peste 50% şi tot cu peste 50% a scăzut şi cantitatea de fibre de celuloză nedigerabile din dietă, ambele aceste tipuri de modificări avînd un caracter aterogen.

Deşi rezultatele studiilor privind corelaţia dietă-ateroscleroză nu au fost pînă acum concludente, se încearcă să se recomande folosirea unei alimentaţii care ar putea preveni sau întîrzia apariţia manifestărilor clinice ale aterosclerozei. Astfel dieta „tipică" a americanului, care conţine 84 g proteine, 278 g glucide, 106 g lipide (40% din calorii), 800 mg colesterol, furnizînd în total

Scanned with OKEN Scanner

2 400 calorii, se propune a fi înlocuită cu o dietă conținînd 86 g proteine, 389 g glucide, 56 g lipide (20 % calorii) și 100 mg colesterol, rezultînd tot 2 400 calorii (KRITCHEVSKY 1978 b, c).

Întrucît anumite modificări cantitative sau/și calitative ale lipidelor, proteinelor și glucidelor din dietă nu au dus la rezultatele așteptate privind prevenirea cardiopatiei ischemice, atenția cercetătorilor s-a îndreptat și asupra durității apei și cantității diverselor oligoelemente. Este un fapt de necontestat că mortalitatea prin infarct de miocard apare mult mai ridicată în țările al căror sol este constituit din roci foarte vechi, precambriene (granit și gnezii metamorfice), în comparație cu țările unde solul este alcătuit din calcar. Exemplul cel mai elocvent îl reprezintă peninsula Scandinavică comparativ cu bazinul Mediteranei; locuitorii din jurul acestei mări beneficiază de o apă mai dură, datorită solubilizării calciului și magneziului, apă căreia i s-au atribuit proprietăți antiaterogene. Duritatea apei a fost implicată și pentru a se explica diferențele de mortalitate prin infarct de miocard între zonele de est și de vest ale Finlandei. În estul Finlandei duritatea apei este semnificativ mai scăzută decît în vest, iar incidența infarctelor de miocard de peste două ori mai mare, această incidență crescută asociindu-se „spectaculos" și cu valori foarte mici ale cromului (PUNSAR și col. 1975, 1977). Cu această constatare intrăm în sfera unor noi componenți ai dietei implicați în aterogeneză, microelementele. Au fost studiate din punct de vedere al patogeniei aterosclerozei magneziul, vanadiul, zincul, cuprul, cromul, cadmiul, litiul, fluorul, siliciul, iodul, plumbul, molibdenul, seleniul, cobaltul etc. Se atribuie siliciului, vanadiului, magneziului, cromului și litiului un efect protector asupra peretelui arterial, în timp ce plumbul, cadmiul, cuprul, bismutul etc. ar avea efecte aterogene. Apariția leziunilor de ateroscleroză se asociază cu scăderea, în zona respectivă, a cantităților de nichel, magneziu, zinc, cobalt, vanadiu și fier și cu creșterea plumbului, galiului, cuprului și bismutului (ILINSKY și BABADJANOV 1975). S-au evidențiat unele modificări ale raporturilor cadmiu / zinc și zinc / cupru ce ar putea fi corelate cu procesul de aterogeneză (MASIRONI 1974; DEBRY 1976), în special variațiile raportului zinc / cupru fiind considerate factor de risc în ateroscleroză (KRITCHEVSKY și col. 1976).

În lumina datelor care se acumulează în acest domeniu, se face tot mai des recomandarea de a se studia posibila acțiune aterogenă sau antiaterogenă a unei diete prin prizma tuturor elementelor constitutive. În plus apar deosebit de importante anumite interacțiuni între componentele dietei.

b. MEDICAȚIA HIPOLIPEMIANTĂ

Plecîndu-se de la constatarea că hipercolesterolemia și hipertrigliceridemia acționează ca factori de risc ai aterosclerozei, s-a emis ipoteza că prin reducerea la normal a concentrației în plasmă a acestor lipide ar scădea și riscul apariției cardiopatiei ischemice sau a accidentelor vasculare cerebrale. În acest scop, în afară de dietă, medicul practician are la dispoziție și medicamente cu acțiune hipolipemiantă, apte a inhiba sinteza endogenă a colesterolului sau/și trigliceridelor, de a potența catabolismul acestor lipide, excreția lor, precum și de a produce variate tipuri de blocade metabolice. O prezentare schematică a modului de acțiune a principalelor medicamente hipolipe-

Scanned with OKEN Scanner

miante este sugerată de *fig. 54*. Acest nou capitol de farmacologie şi farmacodinamie, extrem de dinamic, se dezvoltă pe linia găsirii unor substanţe cu acţiune cît mai specifică şi eficienţă cît mai crescută. Menţionăm, în acest sens, experimentarea unor medicamente cu efecte numai hipo β-lipoproteine-

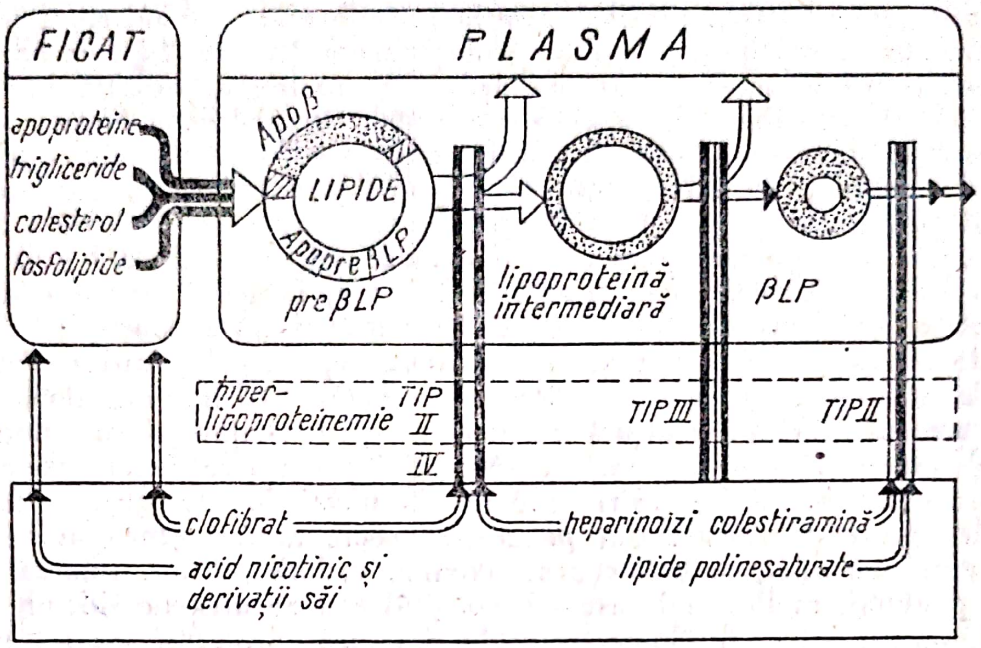


Fig. 54 Sinteza şi catabolismul lipoproteinelor, hiperlipoproteinemiile şi locul de acţiune al medicamentelor hipolipemiante (după FASSINA, 1976).

mice, cum ar fi substanţa U-41792 (DAY şi col. 1976). Concomitent cu diminuarea cantităţii de colesterol liber şi esterificat din β-lipoproteine, unele dintre aceste medicamente stimulează şi sinteza de α-lipoproteine sau/şi măresc concentraţia de colesterol din aceste macromolecule, cum ar fi de exemplu preparatul BR-933 (SIRTORI şi col. 1978).

Mulţi autori prezintă medicaţia hipolipemiantă ca un important mijloc de prevenire şi tratare a aterosclerozei, dar materialul faptic se referă la date experimentale şi nu la om. Ateroscleroza umană este o boală multifactorială, medicaţia hipolipemiantă adresîndu-se numai anumitor mecanisme implicate în patogenia aterosclerozei. La mulţi subiecţi aceste mecanisme nu sînt cele mai importante, pe primul plan putînd acţiona hipertensiunea arterială, tabagismul, stresul psihic şi alţi factori de risc. Efectele medicaţiei hipolipemiante sînt cu atît mai evidente, cu cît, la subiectul tratat, hipercolesterolemia şi/sau hipertrigliceridemia joacă un rol aterogen mai important în raport cu alţi factori de risc asociaţi. Această medicaţie este larg recomandată în hiperlipoproteinemiile primare şi secundare. Dispariţia xantoamelor, a semnelor de pancreatită recurentă etc. în hiperlipoproteinemii de tipul II, III, IV şi V, a fost interpretată ca o dovadă de regresiune a leziunilor sub influenţa acestei medicaţii. Prin asociere s-a susţinut că s-ar putea produce şi regresiunea leziunilor de ateroscleroză, acceptîndu-se punctul de vedere că aceste leziuni sînt similare xantoamelor. Acest punct de vedere îşi poate găsi confirmarea în anumite modele experimentale şi mai puţin în patologia umană. În afara histogenezei diferite a leziunilor produse prin diete bogate în colesterol şi a

Scanned with OKEN Scanner

celei apărute spontan la om, există şi deosebiri importante structurale şi evolutive. Xantoamele iau naştere în ţesuturi vascularizate, plăcile aterosclerotice în intime avasculare; rezorbţia lipidelor în xantoame este ajutată de prezenţa capilarelor sanguine şi a macrofagelor ataşate de ele, în timp ce în plăcile aterosclerotice sînt prezente celule musculare netede genetic deficiente în enzime apte a hidroliza esterii de colesterol.

CLOFIBRATUL SAU ATROMID S

Clofibratul (etil-α-p-clorofenoxi-izobutirat) este prezentat de industria noastră farmaceutică sub formă de capsule conţinînd 0,250 g. Se recomandă ca doză zilnică optimă 0,020—0,030 g/kg greutate corporală, ceea ce reprezintă 1,5—2,25 g pe zi, incluse în 6—9 capsule.

Eficienţa acestui tratament este ilustrată în *tabelul XVI*. Se constată o reducere semnificativă a valorilor colesterolemiei şi trigliceridemiei şi reducerea cu 50—70% a valorilor colesterolului şi trigliceridelor din pre β-lipoproteine, în trei tipuri de hiperlipoproteinemii: IIA, IIB şi IV. În ceea ce priveşte β-lipoproteinele, trigliceridele scad cu numai 20%, iar colesterolul se reduce cu 36% în tipul IIA, cu 26% în tipul IIB, rămînînd nemodificat în tipul IV. În sfîrşit în α-lipoproteine, trigliceridele scad semnificativ în toate tipurile de hiperlipoproteinemii enumerate, în timp ce colesterolul creşte numai în tipurile IIB şi IV. Am considerat util a prezenta aceste rezultate (CARLSON şi col. 1974) spre a demonstra că prin instituirea unui tratament cu clofibrat apar modificări în toate clasele de lipoproteine. Răspunsurile dife-

TABELUL XVI

Efectele clofibratului şi ale dietei hipolipemiante asupra valorilor colesterolului şi trigliceridelor din lipoproteine în hiperlipoproteinemiile de tipul II A, II B şi IV (după CARLSON, OLSSON, ORÖ, RÖSSNER şi WALLDIUS 1974, cu permisiunea editurii Springer, Berlin, New York)

Clasa de lipoproteine	Colesterol (mg/100 ml)			Trigliceride (mmol/L)		
	înainte de tratament	după tratament	variaţii %	înainte de tratament	după tratament	variaţii %
Hiperlipoproteinemiile tip II A						
Ser	376	256	−32*	1.93	1.22	−37*
Pre β	22	11	−50*	0.78	0.39	−50*
β	265	169	−36*	0.78	0.59	−24*
α	66	63	−5	0.29	0.17	−41*
Hiperlipoproteinemiile tip II B						
Ser	346	255	−26*	3.27	1.52	−54*
Pre β	45	14	−69*	1.99	0.58	−71*
β	254	187	−26*	0.90	0.66	−27*
α	47	54	+15*	0.95	0.20	−20*
Hiperlipoproteinemiile tip IV						
Ser	284	244	−21*	5.22	1.84	−65*
Pre β	73	22	−69*	3.83	0.91	−76*
β	151	138	−8	0.77	0.62	−19*
α	43	48	+12*	0.36	0.22	−39*

* variaţii statistic semnificative

Scanned with OKEN Scanner

rite privesc în special valorile colesterolului, în timp ce trigliceridele prezintă în mod aproape constant o scădere generală. Este de asemenea important de semnalat răspunsul individual la tratament, la anumiți pacienți cu tipul IV de hiperlipoproteinemie apărînd o creștere a valorilor colesterolului din β-lipoproteine, la alții o scădere și la alții valori nemodificate. S-a mai constatat absența modificării valorilor colesterolului din pre β-lipoproteine dacă înainte de începerea tratamentului aceaste valori erau sub 140 mg/100 ml și eficiența clofibratului în a reduce cantitatea de colesterol atunci cînd valorile inițiale erau peste acest prag.

Din datele acumulate în literatură rezultă că efectul cel mai evident și mai constant al clofibratului constă în reducerea valorilor trigliceridemiei și ale lipoproteinelor bogate în trigliceride, din clasa pre β. Această diminuare a valorilor pre-β-lipoproteinelor poate antrena scăderea nivelului colesterolemiei, chiar în eventualitatea nemodificării valorilor β-lipoproteinelor. De aceea tratamentul a dat rezultate satisfăcătoare în special în acele turburări ale metabolismului lipidic în care sînt implicate pe prim plan trigliceridele, cum ar fi hiperlipoproteinemiile de tip IIB, III, IV și V. Mecanismul intim de acțiune este încă puțin cunoscut sugerîndu-se: inhibarea acetil coenzimei A, activarea α-glicerofosfat dehidrogenazei, potențarea sintezei acizilor biliari, a eliminării colesterolului prin tubul digestiv etc. În ficatul șobolanilor tratați cu clofibrat, conversiunea acetatului în mevalonat și a acestuia în colesterol poate scădea pînă la 50% din valorile normale, o scădere similară constatîndu-se și în formarea scualenului și a lanosterolului. De un interes mai deosebit este efectul inhibant exercitat de clofibrat asupra hidroxi-metil-glutaril coenzimei A reductazei (EC 1.1.1.34), cu dereglarea mecanismului *feedback* negativ de control al sintezei colesterolului. La șobolani în a căror dietă s-a adăugat 0,3% clofibrat, scăderea activității HMG-CoA reductazei a fost de aproximativ 60% (BERNDT și col. 1978). Mai menționăm observații privind inhibarea formării trigliceridelor și eliberării de acizi grași din celulele țesutului adipos, ca urmare a blocării activității AMP-ului ciclic. Ar rezulta un aport redus de acizi grași liberi la nivelul ficatului care ar explica, cel puțin în parte și diminuarea ratei de sinteză a pre β-lipoproteinelor. Un alt mod de acțiune a clofibratului ar fi legarea sa de apoproteina B, rezultînd atașarea a aproximativ 20 de molecule de medicament la o macromoleculă de pre-β sau β-lipoproteină (BEAUMONT și DACHET 1973). Această atașare se face în detrimentul legării lipidelor, reducîndu-se astfel capacitatea pre β-lipoproteinelor de a fixa trigliceride. Cu cît clofibratul deplasează competitiv trigliceridele din macromolecula de lipoproteină sau inactivează funcțional apo B prin cuplare cu sitele ei reactive, cantitatea de lipide din pre β-lipoproteine se va reduce, modificîndu-se concomitent compoziția chimică, structura și stabilitatea macromoleculei. În consecință se reduce și substratul pe care îl degradează lipoprotein lipaza, a cărei activitate a apărut diminuată după administrare de clofibrat (GRAFNETTER și col. 1971). Se mai menționează, sub acțiunea clofibratului, și o reducere a formării de complexe între β-lipoproteine și mucopolizaharidele acide din intimele arterelor (BIHARI-VARGA și col. 1972), precum și diminuări ale valorilor fibrinogenului, α_2-macroglobulinei, vitaminei K, trombinei și a altor factori implicați în trombogeneză și fibrinoliză.

Clofibratul ar influența și activitatea esterazelor care sintetizează și hidrolizează esterii de colesterol. Potențarea sintezei acestor esteri sub efectul

Scanned with OKEN Scanner

dietelor bogate în colesterol nu mai apare dacă în respectivele diete s-a introdus şi clofibrat (KRITCHEVSKY şi col. 1975). Se susţine că inhibarea formării esterilor de colesterol ar fi mai eficientă după administrare de clofibrat decît a altor medicamente cu acţiune hipolipemiantă. Apare inhibată, de asemenea, şi activitatea enzimei LCAT (WALLENTIN 1978), mai ales la subiecţii cu hipertrigliceridemie. După tratament cu clofibrat s-a mai evidenţiat o regresiune a suprafeţei aortice afectată de acumulări lipidice (JARMOLYCH şi col. 1978). Ea reflectă, pe plan biochimic, o diminuare progresivă a cantităţii de colesterol esterificat din leziune şi a ADN-ului din celulele intimei lezate, sugerînd o inhibare a sintezei sau/şi o potenţare a hidrolizei esterilor de colesterol, asociată cu o inhibare a proliferării celulelor musculare intimale (AUGUSTYN şi col. 1978).

În sfîrşit mai menţionăm un efect particular al clofibratului exercitat asupra axului hipofizo-corticosuprarenal, avînd drept consecinţă diminuarea sau dispariţia alterărilor vasculare spontane ce apar la şobolani în perioada de împerechere (WEXLER şi GREENBERG 1978 a). Acţiunea principală a medicamentului s-ar exercita prin blocarea steroidogenezei corticosuprarenale. La animalele la care s-au produs infarcte miocardice experimentale după administrarea de doze mari de izoproterenol, pretratarea cu clofibrat diminuă severitatea leziunilor, efect atribuit tot reducerii valorilor corticosteroizilor circulanţi (WEXLER şi GREENBERG 1978 b).

În lumina datelor prezentate se poate deduce că prin intermediul clofibratului dispunem de un mijloc terapeutic apt a interfera în mod complex metabolismul lipidic. Aşa cum am mai menţionat, cele mai bune rezultate se obţin la pacienţii cu un raport trigliceride/colesterol sub 0,4 (CARLSON şi col. 1974). Astfel, la pacienţi cu o colesterolemie de aproximativ 400 mg/100 ml şi o trigliceridemie de 60 mg/100 ml, avînd un raport trigliceride/colesterol de 0,15 apar reduceri cu peste 30% ale valorilor respectivelor lipide. Sînt astfel diminuate acţiunile nocive a doi factori de risc ai aterosclerozei şi în primul rînd a hipercolesterolemiei. Dacă rezultatele nu corespund aşteptărilor, medicaţia cu clofibrat poate fi asociată cu alte substanţe cu acţiune hipolipemiantă, obţinîndu-se frecvent o creştere a eficienţei terapeutice şi posibilitatea folosirii unor doze mai mici de medicamente. Menţionăm, de exemplu, normalizări ale valorilor colesterolemiei şi trigliceridemiei obţinute cu doze de numai 2 g de clofibrat şi 3 g de niceritol la 15 din cei 17 pacienţi cu hiperlipoproteinemie supuşi acestui tratament (OLSSON şi col. 1975). Sînt semnalate şi efecte promiţătoare prin asocierea clofibratului cu diosgenina, medicament ce inhibă absorbţia intestinală a colesterolului, potenţează sinteza de β-lipoproteine şi măreşte valorile colesterolului în aceste macromolecule (CAYEN şi DVORNIK 1978).

ACIDUL NICOTINIC

În studiul complex efectuat de „Coronary Drug Project Research Group" (1975) se menţionează că acidul nicotinic a fost singurul dintre medicamentele hipolipemiante testate care a diminuat în mod semnificativ incidenţa infarctelor de miocard şi accidentelor vasculare cerebrale.

Acţiunea substanţei pare deosebit de eficace în hiperlipoproteinemiile de tipul II, susţinîndu-se chiar că o hiperlipoproteinemie care poate fi contro-

Scanned with OKEN Scanner

lată şi cu o altă medicaţie în afara acidului nicotinic, nu este de tipul IIA sau IIB.

La iepurii cu ateroscleroză experimentală trataţi cu acid nicotinic sau cu derivaţii săi, se obţine: o creştere a raportului lipoproteinelor α/β de la 0,02 la animalele ţinute numai la diete bogate în colesterol, la 0,22 la cele tratate şi cu acid nicotinic; reducerea suprafeţei aortice afectată de leziuni de la 57% la 44%; creşterea considerabilă a raportului colesterol liber/colesterol esterificat ca urmare a inhibării activităţii colesterol ester sintetazei (PARWARESCH şi col. 1978). Diminuarea ratei de esterificare a colesterolului sub acţiunea acidului nicotinic mai reflectă şi o scădere a sintezei de acizi graşi liberi necesari esterificării, datorită creşterii cantităţii de nucleotizi piridinici şi reducerii raportului NADH/NAD^+. Scăderea valorilor trigliceridemiei sub acţiunea acidului nicotinic este foarte evidentă mai ales dacă se analizează compoziţia chimică a pre β-lipoproteinelor. Pare probabil ca acidul nicotinic să potenţeze sinteza de apoproteine C, mai ales fracţia CII ce stimulează activitatea lipoprotein lipazei, mărind astfel rata de catabolizare a pre β-lipoproteinelor (CARLSON şi WAHLBERG 1978).

Dintre derivaţii acidului nicotinic este larg utilizat niceritolul, considerat de anumiţi autori ca avînd o eficacitate mai mare ca agent antiaterogen decît dozele echivalente de acid nicotinic (BRATTSAND şi LUNDHOLM 1971). Experimental, se menţionează în special diminuarea diametrului leziunilor de ateroscleroză în arterele de porci, cu reducerea cantitativă a colesterolului liber şi esterificat (LUNDHOLM şi col. 1978). Raportul sinteză/hidroliză a esterilor de colesterol, ce creşte cu 177% după administrare de diete bogate în colesterol este diminuat la 66% dacă dietele conţin şi niceritol (KRITCHEVSKY şi col. 1975). La om se menţionează efecte mulţumitoare după administrarea a 3 g pe zi în hiperlipoproteinemiile de tipul V, reflectate de o scădere cu 70% a valorilor colesterolemiei şi cu 90% ale trigliceridemiei; în tipul III de hiperlipoproteinemie reducerea a fost de 50% şi respectiv 60%, iar în tipurile IIA, IIB şi IV a variat între 10—20% (CARLSON şi col. 1974). Dintre diferitele clase de lipoproteine, cel mai constant sînt afectaţi chilomicronii, apoi pre β-lipoproteinele, femeile răspunzînd la tratament mai bine decît bărbaţii. Destul de frecvent, după tratamente cu acid nicotinic şi derivaţii săi, s-au notat creşteri ale valorilor sanguine ale transaminazelor şi fosfatazelor alcaline, mai ales după doze ce depăşesc de 150—200 ori nevoile zilnice de vitamină necesară formării nicotinamidei adenin nucleotidului. Se recomandă asocierea niceritolului cu propranolol pentru a se putea reduce dozele eficace de medicament şi a se preveni creşterea acizilor graşi circulanţi la pacienţi cu descărcări repetate de catecolamine.

SECVESTRANŢI DE ACIZI BILIARI (MEDICAŢIA NEABSORBABILĂ)

Din colesterolul provenit din alimentaţie 30—50% este supus procesului de absorbţie intestinală, încorporat în chilomicroni (în parte şi în pre β-lipoproteine) şi dus la ficat pentru procese metabolice complexe. Colesterolul hepatic este folosit pentru formarea lipoproteinelor (8—12 micromoli/zi), a acizilor biliari (1 micromol/zi) şi excretat odată cu bila (2,5 micromoli/zi). Participarea sărurilor biliare la absorpţia intestinală a grăsimilor a sugerat folosirea unor medicamente care, secvestrînd acizii biliari, să diminue absorpţia intestinală a lipidelor, în special a colesterolului. Este astfel stimulat ficatul să

Scanned with OKEN Scanner

convertească în acizi biliari cantităţi tot mai mari de colesterol din plasmă, reducîndu-se concomitent şi *turnover*-ul colesterolului endogen.

Primele observaţii privesc efectul unor fibre nedigerabile, provenind din scheletul plantelor şi care rezistă digestiei efectuate de enzimele tubului digestiv. Astfel celuloza, un polimer neramificat al 1-4-β-D-glucozei, conţinînd 3 000—100 000 unităţi de glucoză polimerizate, în doze de 15—20 g pe zi, reduce nesemnificativ valorile colesterolemiei. Rezultate mai bune au fost obţinute cu tărîţe în doze de 30—45 g pe zi, constatîndu-se şi o creştere semnificativă a excreţiei de săruri biliare şi de produşi rezultaţi din metabolismul colesterolului. Efecte hipocolesterolemiante s-au obţinut şi cu pectină, 12—36 g pe zi, polimer de 1-4-β-D-acid galacturonic, cu plante bogate în lignină, polimer de fenilpropan, cu trestie de zahăr măcinată, caragenină, grăunţi de orz, grîu, ovăz etc. Concomitent cu reducerea valorilor colesterolemiei s-au notat şi reduceri ale glicemiei, precum şi ale absorbţiei intestinale de oligoelemente, acest ultim efect reprezentînd inconvenientul major al dietelor bogate în fibre nedigerabile. Unii cercetători susţin că incidenţa extrem de redusă a cardiopatiei ischemice în anumite ţări din Africa, Asia şi America de Sud, s-ar datora, în primul rînd, conţinutului bogat în fibre nedigerabile al dietei populaţiilor respective (TROWELL 1972; BURKITT şi col. 1974). Această ipoteză a trezit interesul pentru descoperirea de substanţe apte a secvestra sărurile biliare într-un mod mai eficient decît fibrele nedigerabile din plante. Aceste substanţe sînt astăzi larg utilizate ca agenţi hipolipemianţi, colestiramina, de exemplu, secvestrînd peste 80% din sărurile biliare cu care vine în contact, faţă de numai 1,4% legate de celuloză, 9% de tărîţe şi 29,2% de lignină (STORY şi KRITCHEVSKY 1976).

Dintre medicamentele mai cunoscute, colestiramina, colestipolul şi sexcholexul acţionează prevalent ca secvestranţi de acizi biliari, în timp ce sitosterolul şi neomicina inhibă în mod prevalent absorbţia intestinală a colesterolului.

Tratamentul cel mai eficient din punct de vedere antiaterogen se referă la tipul IIA de hiperlipoproteinemie. Întrucît tratamentul trebuie început încă din copilărie şi are o durată extrem de lungă este necesar ca el să nu fie toxic şi să fie acceptat de micul pacient şi de familia sa. Cu colestiramină 0,6 g/kg/zi se pot obţine reduceri de 30—40% ale nivelului colesterolemiei. Doza eficientă poate fi corelată atît cu rata excreţiei fecale a acizilor biliari, cît şi cu rata diminuării valorilor colesterolemiei. Administrarea colestiraminei poate interfera însă cu absorpţia anumitor medicamente (anticoagulante, tiroxină, acid nicotinic, săruri de fier, acid folic, vitamină K etc.). În plus, continua accumulare de acizi biliari în exces în bilă favorizează formarea calculilor; s-au mai notat şi creşteri de lungă durată ale valorilor acidului uric.

Colestipolul (Colestid) este un polimer al polietilen poliaminei cu 1-cloro-2,3-epoxipropanul. Răspund la acest tratament în special pacienţii cu hiperlipoproteinemii de tipul IIA, diminuarea valorilor trigliceridelor fiind mai puţin netă decît cea a colesterolului. Colestipolul ar acţiona în primul rînd prin activarea colesterol 7-α-hidroxilazei, enzimă ce catalizează conversiunea colesterolului în acizi biliari; pe plan secundar, potenţează catabolismul colesterolului şi îi reduce *turnover*-ul. Se obţin reduceri ale hipercolesterolemiei de aproximativ 20%, rezultat de mare utilitate şi care poate fi amplificat dacă se asociază clofibratul (GRUNDY şi MOK 1977). Această asociere devine necesară cînd se constată o reducere a colesterolemiei şi creşterea valori-

Scanned with OKEN Scanner

lor trigliceridemiei. Un efect nedorit după tratamentul cu colestipol este intensificarea sintezei de colesterol în ficat, țesut adipos și perete arterial, ca răspuns la creșterea eliminării sale prin bilă și intestin. Acest efect poate fi contracarat prin asocierea de substanțe cu efect inhibant asupra sintezei endogene a colesterolului.

Experimental, la iepurii hrăniți cu diete bogate în colesterol, administrarea de substanțe apte a bloca absorbția intestinală a colesterolului previne formarea leziunilor iar colesterolemia rămîne în limitele superioare ale normalului. O astfel de substanță denumită THD-341 (N-(2,6 dimetilfenil)-Δ^8-dihidroabietamidă) este pregătită pentru încercări clinice, în scopul uzilizării ca tratament preventiv al aterosclerozei. Nu produce însă regresiunea leziunilor odată constituite (ENOMOTO și col. 1978). O altă substanță, denumită Benzfibrat [2-(4-[2-(4-clorobenzamido)-etil]-fenoxi]-2-metil acid propionic) produce o scădere semnificativă a valorilor lipoproteinelor pre β și β, asociată cu creșterea α-lipoproteinelor (OLSSON și LANG 1978).

Inhibarea absorbției colesterolului se poate obține și cu neomicină care pătrunde în organism doar în proporție de 1% din cantitatea administrată. În doze de 0,5—2 g pe zi, similare celor folosite pentru acțiunea antibiotică, reduce colesterolemia cu 15—35%, mai ales în hiperlipoproteinemiile de tipul II.

În încheierea acestor date menționăm că pacienții cu cardiopatie ischemică sînt deseori supuși unui regim alimentar sărac în fibre nedigerabile și că în numeroase lucrări se susține existența unei corelații lineare între scăderea din alimentație a fibrelor nedigerabile și creșterea incidenței infarctului de miocard.

SUBSTANȚE VARIA

Fosfatidilcolina polinesaturată este fosfolipidul cu cel mai net efect hipolipemiant, efect atribuit bogăției în acizi linoleic și linolenic. Prin esterificarea colesterolului cu acizi grași nesaturați prezenți în fosfatidilcolină s-ar acumula, în țesuturi, lipide ce nu produc fenomene iritative locale și care ar fi mai ușor degradate de enzimele lizozomale. În plus, fosfatidilcolina polinesaturată ar potența activitatea acestor enzime, mai ales a esterazelor cu acțiune hidrolitică ce desfac esterii de colesterol în colesterol liber și acizi grași (ROZEWICKA și col. 1976). Fosfolipidul ar mai exercita și un efect inhibant asupra esterazelor ce sintetizează esteri de colesterol, mărind și rata de catabolizare a colesterolului. Folosirea fosfatidilcolinei polinesaturate în hiperlipoproteinemii de tipul IIB sau IV este urmată de scăderea valorilor colesterolemiei și de schimbarea paternului acizilor grași din lipidele plasmatice, cu scăderea raportului 18 : 1/18 : 2.

Propranololul reduce depunerile lipidice din leziunile de ateroscleroză experimentală, concomitent cu diminuarea hipercolesterolemiei și a valorilor presiunii sanguine. Atît propranololul, cît și alți blocanți β-adrenergici inhibă eliberarea acizilor grași din depozitele țesutului adipos, diminuînd astfel rata de esterificare a colesterolului în ficat și în plasmă. Apar reduceri semnificative și ale valorilor trigliceridemiei, recomandîndu-se folosirea acestui medicament în hiperlipoproteinemiile de tipul IV, precum și în alte tipuri de hiperlipoproteinemii cu hipertrigliceridemie. Utilitatea propranololului crește cînd pacienții cu hiperlipoproteinemie au și hipertensiune arterială, precum și manifestări clinice de cardiopatie ischemică.

Acidul paraaminosalicilic, larg folosit în tratamentul tuberculozei, s-a dovedit a fi și un agent hipolipemiant (KUO și col. 1976). În doze de 8—9 g/zi la adult și de 5—6 g/zi la copil, asociat cu o dietă adecvată, produce scăderi atît ale colesterolemiei cît și ale trigliceridemiei. Modul de acțiune este puțin cunoscut, sugerîndu-se o inhibare a sintezei intrahepatice a colesterolului și trigliceridelor, ceea ce îl recomandă în hiperlipoproteinemiile de tipul IIB. S-a mai constatat și o blocare a conversiunii glucozei în lipide (HAYASE și col. 1975).

Uleiul de usturoi adăugat în proporție de 0,25 sau 0,50 % la dieta conținînd 2% colesterol reduce, în comparație cu lotul fără ulei de usturoi, cu 10—80 % valorile colesterolemiei

Scanned with OKEN Scanner

și cu 15–45% cantitatea de lipide acumulată în peretele arterial (KRITCHEVSKY 1975). Concomitent, se reduce cu aproximativ 1/3 și suprafața aortică afectată cu leziuni aterosclerotice. Principiul activ ar fi o mixtură de alil propil disulfid, alil disulfid și alți compuși conținînd sulf. Dintre aceste substanțe cea mai eficientă ca acțiune hipolipemiantă pare a fi alil disulfidul în doze de 2–3 mg/zi.

Vitamina C administrată la iepure cu o dietă conținînd 0,3% colesterol, reduce atît valorile colesterolemiei cît și depunerile intraarteriale de colesterol, în comparație cu animalele supuse doar dietei aterogene. În special reducerea cantitativă a lipidelor din leziune și în primul rînd a colesterolului esterificat a apărut semnificativă (SOKOLOFF și col. 1966). S-a sugerat că acidul ascorbic ar participa în mod direct la metabolismul colesterolului, mai ales la procesele de sinteză. Această afirmație este susținută de constatarea că după administrare de acid ascorbic marcat cu S^{35}, se poate evidenția, în peretele arterial, o formă sulfatată a colesterolului, ce este mai rapid degradată decît forma nesulfatată. În plus, vitamina C ar influența și rata conversiunii colesterolului în acizi biliari, mărind în mod semnificativ această rată. Cobaii ținuți la diete lipsite de vitamină C și de lipide, fac o hipercolesterolemie spontană, asociată uneori și cu o hipertrigliceridemie, iar în artere apar degradări ale țesutului elastic și acumulări de mucopolizaharide acide. Într-un stadiu mai avansat de evoluție se formează microplăci fibroase în care se depun săruri de calciu. În stadiile ce preced apariția leziunilor s-au evidențiat intensificări ale activității esterazelor, lipazelor, fosfolipazelor, 5-nucleotidazei și β-glucuronidazei. Modificări similare au fost obținute după administrare de doze mici de adrenalină (FUJINAMI și OKADO 1974).

Vitaminele A și *E* produc experimental o creștere a catabolismului colesterolului, de intensitate mai redusă decît cea obținută cu vitamina C. Această creștere se asociază cu mărirea *turnover*-ului pre β-lipoproteinelor și apariția de hipertrigliceridemie. S-a mai menționat o diminuare a ratei de absorbție intestinală a colesterolului și o reducere a cantității de colesterol din membranele celulare, urmată de labilizări ale respectivelor membrane (BRATTSAND 1975). În hiperlipoproteinemii se menționează rezultate mulțumitoare prin asocierea vitaminei A cu vitamina C și cu acidul nicotinic.

Tiroxina (în special dextraizomerul acestei substanțe) exercită acțiune hipolipemiantă netă, dar utilizarea ei are implicații generale metabolice care pot fi uneori severe. În plus potențează manifestarea clinică a unei cardiopatii ischemice aflată încă sub stadiul subclinic. Rezultatele cele mai bune se obțin la pacienții cu hiperlipoproteinemii care prezintă și un anumit grad de insuficiență tiroidiană, hipercolesterolemia fiind un test de laborator obișnuit al hipotiroidiilor. Această insuficiență induce o creștere a valorilor colesterolului și trigliceridelor în β-lipoproteine și numai a colesterolului în pre β-lipoproteine (RÖSSNER și ROSENQVIST 1974). Rezultă prezența unor pre β–β lipoproteine cu raport colesterol / trigliceride peste normal și care revine în limitele fiziologice după administrare de hormoni tiroidieni. Lipoproteinele de tip intermediar, generînd frecvent hiperlipoproteinemiile de tipul III au și un conținut ridicat de apoproteine, sugerînd că nu s-a produs transferul spre α-lipoproteine și că există o blocadă a conversiunii pre β în β-lipoproteine. Repetăm că nu trebuie administrați hormonii tiroidieni la subiecți „la risc" sau cu cardiopatie ischemică.

Estrogenii au fost și mai sînt încă folosiți ca agenți hipolipemianți, dar s-a atras atenția asupra creșterii incidenței infarctului de miocard sub acțiunea acestei terapii (Coronary drug project research study 1973). Se menționează efecte antiaterogene rezultînd din sinteza crescută de fosfolipide, creșterea valorilor α-lipoproteinelor, diminuarea cantității de colesterol din β-lipoproteine, potențarea ratei de catabolizare a colesterolului (FURMAN 1968; HURLEY și SCOTT 1970).

Androgenii produc efecte hipolipemiante prin reducerea sintezei trigliceridelor, în acest sens acționînd în special oxandrolona (17-β-hidroxi-17-metil-2-oxa-5-androstan-3-one). Diminuarea cantității de trigliceride apare în toate clasele de lipoproteine, rezultînd implicit și o modificare a raportului colesterol / trigliceride. Pe fondul diminuării generale a valorilor trigliceridelor s-au notat creșteri izolate ale β-lipoproteinelor și scăderi ale claselor α și pre β. Cele mai promițătoare rezultate obținute sub tratamentul cu oxandrolonă sînt menționate în hiperlipoproteinemiile de tip IV; după un interval de trei luni, cu doze de 7,5 mg/zi, s-a obținut o revenire la normal a valorilor trigliceridemiei (OLSSON și col. 1974).

Exemplele de substanțe cu acțiune hipolipemiantă ar mai putea continua, dar rezultatele nu justifică extinderea acestui subcapitol. Anumiți autori, nemulțumiți de rezultate, cer să se pună în discuție nu cum să tratăm hiperlipoproteinemiile, ci dacă dispunem de mijloace eficiente spre a le intercepta terapeutic (AHRENS 1976). Rolul aterogen al lipidelor nu trebuie nici absoluti-

Scanned with OKEN Scanner

zat, nici ignorat, importanţa acestui rol variind de la un grup de populaţie la altul şi mai ales de la un subiect la altul. Aceasta implică şi folosirea medicaţiei hipolipemiante în concordanţă cu particularităţile individuale, greutatea luării unei decizii în acest sens revenind medicului practician.

B. FIBRINOGENUL

1. DATE INTRODUCTIVE

Utilizarea radioizotopilor a permis să se constate, dinamic, cum o anumită cantitate de fibrinogen pătrunde în mod constant prin endoteliu, străbate intima şi media şi este drenată spre limfaticele adventiceale. S-a mai evidenţiat şi reţinerea intraintimală a macromoleculelor de fibrinogen, mai ales în intimele îngroşate; în intimă, fibrinogenul poate rămîne în echilibru cu cel din plasmă, poate fi degradat în produşi difuzibili, sau poate fi convertit în fibrină. Dacă acest ultim proces devine predominant, se creează condiţiile favorabile formării de trombi intraparietali, pe scheletul cărora se dezvoltă plăcile fibroase aterosclerotice. Cînd aceste plăci sînt ulterior invadate de lipidele rezultate din dezagregarea macromoleculelor de lipoproteine, a hematiilor şi trombocitelor, placa fibroasă devine fibro-lipidică, iar apariţia necrozei o transformă în aterom. Acumulările de reţele de fibrină pot avea un caracter progresiv şi de lungă durată ducînd la obstruarea lumenului arterei şi creînd condiţiile favorabile apariţiei manifestărilor clinice ale aterosclerozei. Constatarea că aproximativ 1/2 din plăcile cu caracter obstructiv existente în arterele cerebrale şi aproximativ 1/3 din cele existente în arterele coronare nu au un conţinut lipidic important reprezintă un puternic argument pentru susţinătorii teoriei privind originea plăcilor din organizarea trombilor intraparietali.

În lumina teoriei trombogene, plăcile se dezvoltă în condiţiile în care echilibrul între formarea şi degradarea reţelelor de fibrină în intimele îngroşate este rupt în favoarea primului proces, ca rezultat al activării mecanismelor locale tromboplastice sau/şi inhibării celor fibrinolitice (ASTRUP 1967). *Fig. 55* schematizează această concepţie care are un caracter mai general, fiind implicată în toate procesele reparatoare ce au loc în ţesutul conjunctiv.

Teoria trombogenă a aterosclerozei a fost susţinută în cursul ultimilor ani şi de aportul adus de studiile efectuate asupra protezelor vasculare din material sintetic şi grefelor de venă safenă implantate în circulaţia coronariană pentru revascularizarea chirurgicală a miocardului. S-a constatat că protezele din material sintetic inserate în artere formează o „pseudo-intimă" sau „neointimă", ce se dezvoltă în două faze succesive: prima fază durează 2—4 săptămîni şi este caracterizată prin aderenţa unor celule sanguine (leucocite, monocite, trombocite, hematii) la suprafaţa străină, cu formarea de trombi celulari, incluzînd mai ales trombocite; a doua fază este dominată de depunerile de reţele de fibrină, în care sînt „secvestrate" celule reticulo-histocitare nediferenţiate, dintre care o parte suferă un proces de dediferenţiere sau de modulaţie funcţională, sintetizînd mucopolizaharide acide, elastină şi colagen, iar o altă parte participă la formarea stratului endotelial. Funcţionalitatea grefei depinde în mare măsură de raportul dintre depunerile de

Scanned with OKEN Scanner

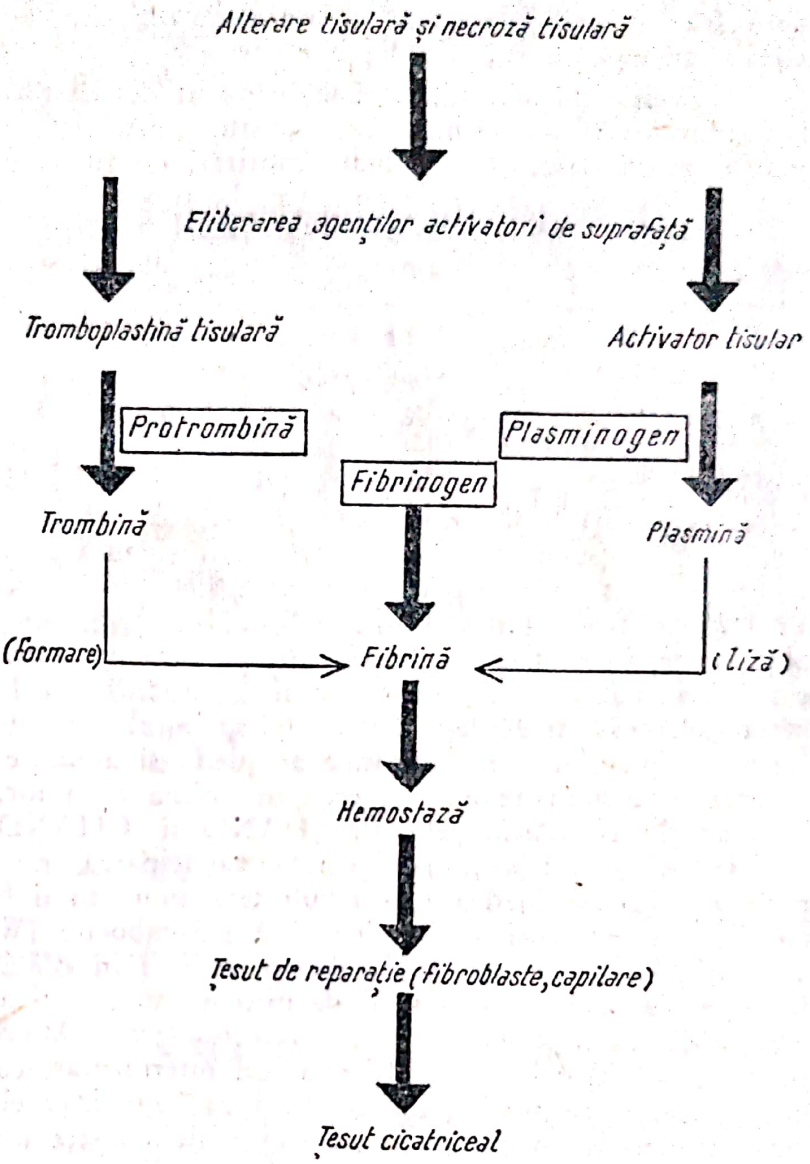


Fig. 55 **Ipoteza susținută de ASTRUP (1967) privind rolul coagulării sanguine și al fibrinolizei în reglarea proceselor reparatoare din țesutul conjunctiv și peretele arterial.**

rețele de fibrină și liza acestor rețele, acest raport fiind influențat de viteza de scurgere a curentului sanguin, presiunea intraluminală, prezența în plasmă a inhibitorilor trombinei etc. Se susține că formarea neointimei grefelor din material plastic prezintă unele etape similare cu formarea intimei în arterele de copil sau de adolescent, ca și a intimelor îngroșate induse de agresiuni mecanice asupra endoteliului (WARREN 1965). De un interes deosebit sînt și observațiile ce continuă să se acumuleze privind modificările care apar în grefele de venă safenă utilizate pentru revascularizarea chirurgicală a miocardului. Un studiu angiografic și histologic pe 97 de astfel de grefe a demonstrat existența de tromboze intraparietale la 73%, multe dintre aceste tromboze fiind organizate conjunctiv și avînd aspectul de mici plăci fibroase (BULKLEY și HUTCHINS 1977). Primele depuneri de fibrină au putut fi evidențiate la numai 1 oră de la implantarea grefei, trombi intraparietali în primele săptămîni, iar plăci fibroase în primele luni (UNNI și col. 1974; BULKLEY și HUTCHINS 1977). Se susține că prin intermediul acestor acumulări masive intimale de fibrină și organizarea lor conjunctivă rapidă s-ar

Scanned with OKEN Scanner

dezvolta „forma accelerată" a aterosclerozei, în care este nevoie doar de cîteva luni pentru apariţia plăcilor fibroase.

Metodele de investigaţie bazate pe utilizarea radioizotopilor şi anticorpilor fluorescenţi au permis să se constate prezenţa, în striurile lipidice şi în plăcile gelatinoase, a unor mari cantităţi de fibrinogen şi fibrină, nedetectabile cu metodele clasice de colorare. În plăcile gelatinoase concentraţia fibrinogenului creşte de aproximativ patru ori în comparaţie cu intima îngroşată perilezională, existînd o reţinere preferenţială a acestui tip de macromoleculă care nu se asociază şi cu secvestrarea altor proteine plasmatice pătrunse odată cu fibrinogenul (SMITH E. B. şi col. 1973).

Examenul cu lupa a suprafeţei endoteliale a aortei a evidenţiat prezenţa microtrombilor într-o proporţie de aproximativ 33% din vasele analizate (CRAWFORD şi LEVENE 1952), în timp ce în alte investigaţii acest procent este mult mai mic, nedepăşind 7% (FRIEDMAN şi BOVENKAMP 1966 b). În materialul nostru, incluzînd aorta şi arterele coronare de la aproximativ 500 de cazuri între 1—50 ani, incidenţa microtrombilor detectaţi numai prin examen microscopic a fost de 6% în aortă şi 9% în arterele coronare (VELICAN C. şi VELICAN 1976 b). Se susţine că 35—40% dintre plăcile aterosclerotice ale aortei, cu sau fără conţinut lipidic, provin prin încorporări succesive de microtrombi şi organizarea lor conjunctivă intraintimală (HAUST şi MORE 1956). În sprijinul participării microtrombilor la formarea plăcilor aterosclerotice ar pleda şi anumite rezultate experimentale în care se demonstrează reţinerea în intima arterelor, a reţelelor de fibrină injectate în circulaţia generală (HAND şi CHANDLER 1962; CASLEY-SMITH şi col. 1967). Tot pentru participarea microtrombilor la formarea plăcilor fibroase pledează şi rezultatele unor studii bazate pe folosirea anticorpilor fluorescenţi antifibrină şi antitrombocite (WOOLF 1970). Aspectul de „stratificare geologică", frecvent întîlnit în plăcile aterosclerotice ar reflecta succesiunea încorporării de microtrombi, care apar în variate stadii de organizare conjunctivă sau degenerescenţă grasă. Microtrombii superficiali din placă conţin trombocite şi fibrină, cei intermediari ca poziţie sînt parţial fibrozaţi sau/şi necrozaţi, iar cei dinspre baza intimei sînt frecvent transformaţi în detritus necrotic. În investigaţiile noastre aproximativ 1/3 din lipidele prezente în aceşti trombi intraparietali păreau a proveni din metamorfoze grase locale (VELICAN D. şi VELICAN 1975 b). Folosirea metodelor de testare a stabilităţii structurale a reţelelor de fibrină ne-a permis să demonstrăm că metamorfoza grasă reprezintă şi unul dintre mecanismele de extindere a plăcilor conţinînd trombi intramurali.

2. ORGANIZARE MACROMOLECULARĂ, CONVERSIUNE ŞI DEGRADARE

a. ORGANIZAREA MACROMOLECULARĂ A FIBRINOGENULUI

Fibrinogenul este un component plasmatic diferenţiat specific în cursul evoluţiei filogenetice pentru procesul de coagulare. Această diferenţiere este reflectată de un *pattern* particular în compoziţia, organizarea şi agregarea macromoleculară. Cunoaşterea acestui *pattern* oferă baza înţelegerii formării microtrombilor şi trombozelor ocluzive implicate în aterogeneză.

Scanned with OKEN Scanner

La microscopul electronic fibrinogenul prezintă aspectul ilustrat de *fig. 56*. Greutatea sa moleculară variază între 320 000 şi 340 000, valorile cele mai des întîlnite fiind de 324 000 (FANTL şi WARD 1965). Această greutate se reduce cu aproximativ 3% cînd fibrinogenul este convertit în fibrină.

Fig. 56 Aspectul electronomicroscopic al macromoleculelor de fibrinogen. Macromoleculele intacte apar ca triade; se mai poate observa agregarea macromoleculelor produsă sub acţiunea trombinei, ×100000 (după HALL şi SLAYTER, 1959, cu aprobarea editurii The Rockefeller University Press, New York).

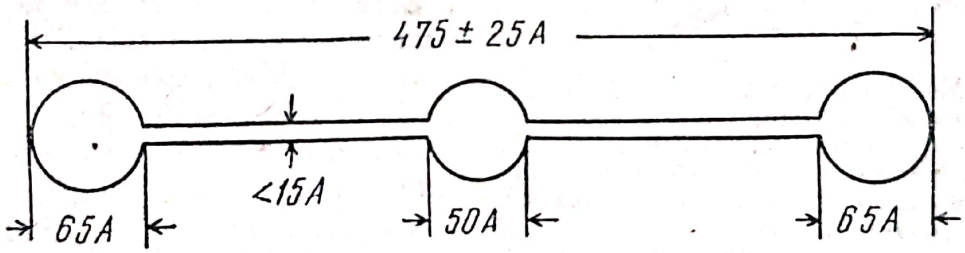


Fig. 57 Primul model propus pentru macromolecula de fibrinogen dedus din observaţii electronomicroscopice de KAY şi CUDDIGAN (1967).

Macromolecula ar fi alcătuită din trei sfere unite prin două punţi subţiri, aşa cum sugerează modelul din *fig. 57*, corespunzînd unui volum macromolecular de $0{,}387 \times 10^6$ nm³ (KAY şi CUDDIGAN 1967) sau de $0{,}34 \times 10^6$ nm³ (KOPPEL 1970).

În fiecare macromoleculă s-au evidenţiat trei perechi de lanţuri, denumite α, β şi γ. În literatura de specialitate, lanţurile sînt prezentate şi sub alte denumiri (fracţiile I, II, III; lanţurile a, b, c etc.), dar în prezenta monografie vom folosi ca indicativi ai lanţurilor, α, β şi γ întrucît sînt cele mai des întîlnite în literatură. Cele trei lanţuri ale macromoleculei de fibrinogen sînt duplicate ca un dimer, iar la capetele lanţurilor α şi β există mici fibrinopeptide denumite A şi B, constituind numai aproximativ 3% din greutatea macromoleculei. Fibrinopeptidele sînt ataşate la capătul N-terminal al respectivelor lanţuri, au un *pattern* al aminoacizilor, o susceptibilitate enzimatică şi o reactivitate imunologică diferită de lanţurile α şi β. *Eliminarea fibrinopeptidelor din macromolecula de fibrinogen de către trombină reprezintă condiţia*

esențială pentru conversiunea fibrinogenului în fibrină, precum și pentru agregarea fibrinei în rețelele ce vor forma trombusul (LORAND 1951, 1965, 1969).

Plecîndu-se de la constatarea că fibrinopeptidele sînt prezente numai pe lanțurile α și β, s-a sugerat următoarea formulă pentru jumătate din macromolecula de fibrinogen:

$$[\alpha(A),\ \beta(B),\ \gamma]$$

iar pentru a reprezenta dimerii ce alcătuesc întreaga macromoleculă:

$$[\alpha(A),\ \beta(B),\ \gamma]_2$$

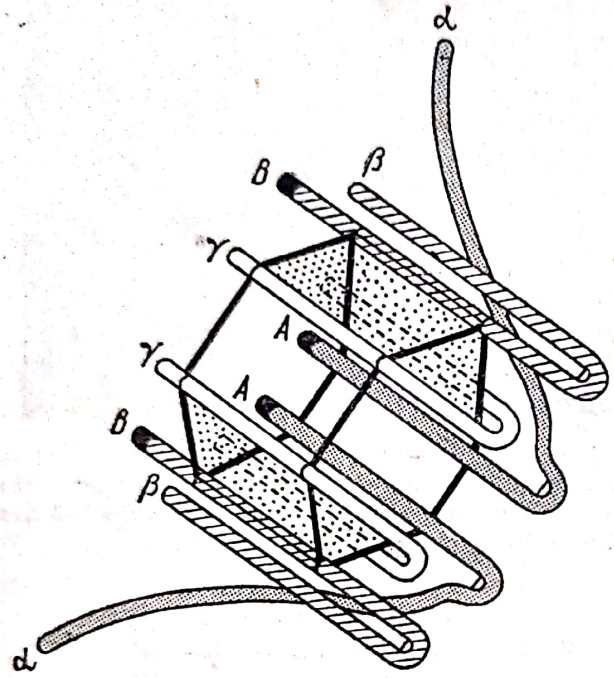


Fig. 58 Model tridimensional al fibrinogenului, incluzînd: lanțurile α A (cadrilate), β B (punctate) și γ (albe). Aceste lanțuri formează o structură dimerică, legată prin punți disulfidice (hexagoane cu laturi groase) în două regiuni ale macromoleculei. Fibrinopeptidele A și B sînt prezentate ca mici zone negre ale capetelor NH_2 terminale ale lanțurilor α și β (după MOSESSON, 1974, cu permisiunea editurii Schattauer, Stuttgart).

Cele două jumătăți ale macromoleculei de aspecte similare sînt legate prin punți disulfidice, rezultînd o structură complex interconectată (*fig. 58*).

Lanțurile polipeptidice au următoarele greutăți moleculare (incluzînd lanțul propriu-zis plus fibrinopeptidul): α (A) 64 000; β(B) 57 000; γ 48 000. Lanțurile α și β au în comun nu numai fibrinopeptidele pe care le clivează trombina, ci și secvența aminoacizilor; pe de altă parte, lanțul γ, căruia îi lipsește fibrinopeptidul prezintă și un *pattern* deosebit al aminoacizilor constitutivi, sugerînd o origină diferită. De altfel el are și un rol aparte în economia macromoleculei, fiind principalul sediu de formare a legăturilor intra- și intermoleculare. Se poate deci afirma că *lanțurile* α și β *au un rol principal în conversiunea fibrinogen-fibrină, iar lanțul* γ *participă la stabilizarea structurală a fibrinei neoformate*. S-a sugerat că macromolecula de fibrinogen ar avea anumite similarități cu modelul simetric divalent al imunglobinelor. În ambele tipuri de macromolecule, zonele care prezintă cea mai importantă activitate biologică sînt situate la polii opuși, perpendicular pe axul de simetrie al macromoleculei.

Fibrinogenul conține și glicopeptide, în constituția cărora intră galactoză, manoză, acetilglucozamină și acid sialic. Unul dintre aceste glicopeptide exercită o acțiune de inhibare a agregării trombocitelor de către ADP (SORIA și col. 1978); alte glicopeptide au fost implicate în procese de coagulare (STOICHIȚĂ-PAPILIAN și NIȚĂ 1970; STOICHIȚĂ-PAPILIAN 1971) și în conversiunea fibrinogen-fibrină (MESTER și SZABADOS 1970). De o importanță particulară ar fi eliminarea acidului sialic din macromolecula de fibrinogen, care conține șase astfel de rezidii. În absența acidului sialic, acțiunea

Scanned with OKEN Scanner

trombinei se intensifică, agregarea monomerilor de fibrină are loc mai rapid şi rata de catabolizare creşte în mod semnificativ. Se pare că prin pierderea acidului sialic rămîne descoperită galactoza care este uşor legată de receptorii de pe membranele celulelor hepatice sau ale sistemului reticulo-histocitar care degradează fibrinogenul.

b. CONVERSIUNEA FIBRINOGEN-FIBRINĂ

Caracteristica acestui proces o constituie *clivarea fibrinopeptidelor A şi B ale lanţurilor* α şi β *de către trombină.*

Fibrinogenul astfel modificat devine apt să polimerizeze şi să dea naştere reţelelor de fibrină. Trombina „recunoaşte" anumite secvenţe păstrate de-a lungul evoluţiei filogenetice în lanţurile α şi β, mai ales cele ale aminoacizilor situaţi în poziţiile 34—44 (BLOMBACK şi col. 1976), clivînd respectivele fibrinopeptide. Această acţiune enzimatică are drept consecinţă numai eliminarea fibrinopeptidelor A şi B, fără nici o altă modificare structurală a macromoleculei; în consecinţă există o similitudine biochimică între fibrinogen şi fibrină. Greutatea moleculară este însă diferită, fiind de 340 000 pentru fibrinogen şi de 330 000 pentru fibrină, diferenţa de 10 000 reflectînd pierderea fibrinopeptidelor.

Hidroliza enzimatică a fibrinogenului efectuată de trombină implică desfacerea a patru legături arginil-glicil, cu apariţia consecutivă a monomerului fibrină; adiţional mai sînt clivate şi două legături arginil-valil. Deşi trombina este o enzimă proteolitică cu activitate mai slabă decît tripsina sau plasmina, cercetările din ultimii ani demonstrează rolul important pe care îl joacă în activarea sau inactivarea a numeroase proteine: protrombina, factorul V, factorul VIII, factorul IX şi factorul XIII al sistemului de coagulare, proteinele din membrana trombocitelor, secretina, trombostenina M, protamina şi actina. S-a mai demonstrat că trombina poate degrada şi reţele de fibrină tot atît de intens ca şi plasmina (KANG şi TRIANTAPHYLLOPOULOS 1977). Dacă se blochează grupările arginil şi lizil din fibrinogen, acţiunea trombinei este mult diminuată, rezultînd macromolecule cu un grad redus şi un ritm lent de conversiune în fibrină.

În condiţii fiziologice, conversiunea fibrinogen-fibrină include trei etape principale: I) proteoliza efectuată de trombină; II) polimerizare; III) stabilizare. Prima fază ar fi dominată de interacţiuni electrice de suprafaţă, ducînd la „ancorarea" trombinei în zona cu fibrinopeptide. Enzima clivează legătura arginină-glicină atunci cînd arginina se află situată la capătul terminal al fibrinopeptidului (*fig. 59*); cînd apar substituţii, clivarea nu mai are loc. Eliminarea fibrinopeptidului B se efectuează într-un ritm mult mai lent decît a fibrinopeptidului A, existînd un tip intermediar de fibrinogen lipsit doar de un singur fibrinopeptid:

$(\alpha, \beta, \gamma)_2\ (A)_2\ (B)_2$	fibrinogenul
$(\alpha, \beta, \gamma)_2\ \ (B)_2$	forma intermediară
$(\alpha, \beta, \gamma)_2$	fibrina

Polimerizarea macromoleculelor de fibrină se face atît prin aşezare cap la cap, cît şi prin agregări laterale, apariţia legăturilor intermoleculare fiind dependentă de poziţia sterică a lanţurilor γ din fiecare macro-

Scanned with OKEN Scanner

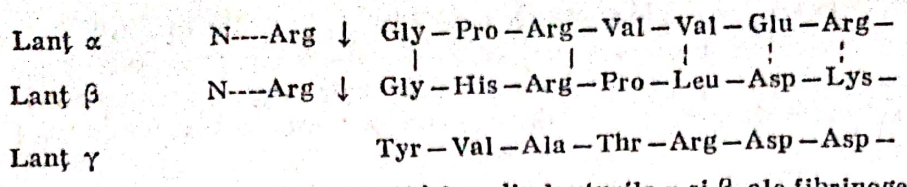


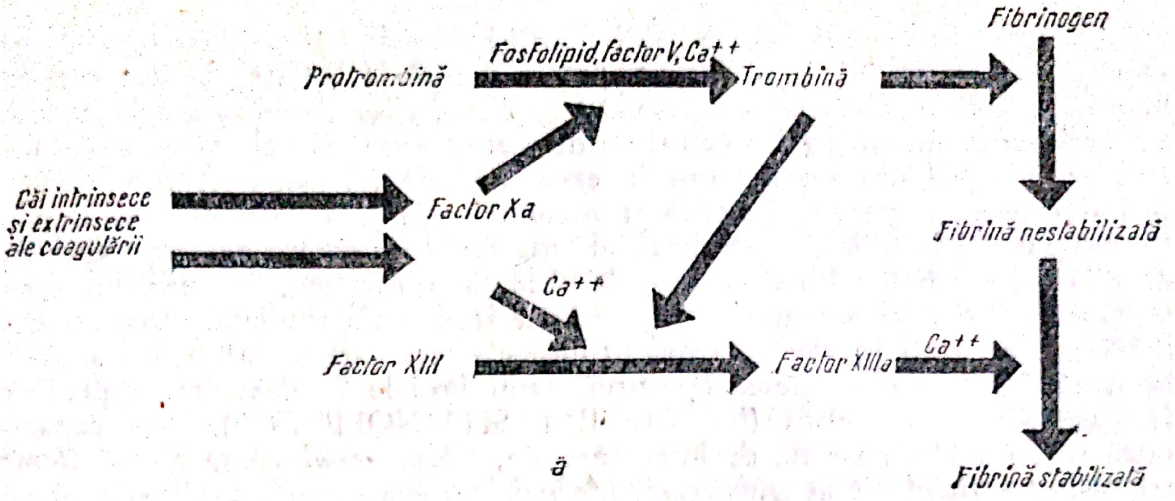
Fig. 59 Eliberarea fibrinopeptidelor din lanțurile α și β ale fibrinogenului, ca primă etapă a conversiunii fibrinogen-fibrină. Acest proces de proteoliză este realizat de trombină, care desface legăturile dintre arginină și glicină (săgeată). Liniile groase, verticale, indică aminoacizii identici în cele două lanțuri, iar liniile punctate, verticale, aminoacizii omologi în cele două lanțuri (după BLOMBÄCK, HENSCHEN, HESSEL, IWANGA, WOODS 1968, cu permisiunea editurii Macmillan Journals Limited, Londra).

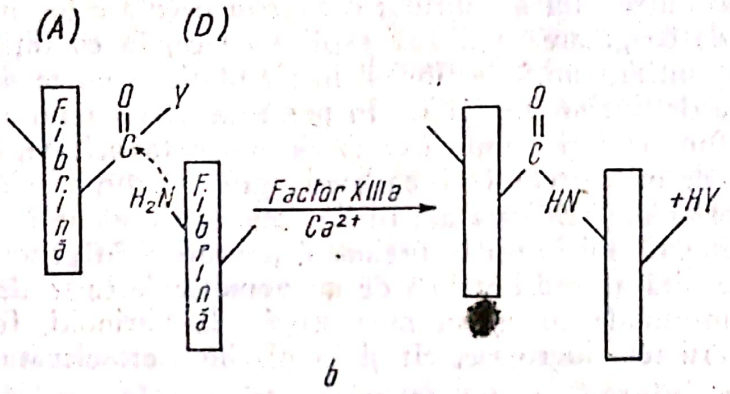
moleculă. Pentru ca această polimerizare să ducă la formarea de rețele este necesar ca *fibrina să devină insolubilă ca urmare a unui proces de transpeptidizare*. Acest proces este activat prin clivarea fibrinopeptidelor, care permite ca două lanțuri γ să se suprapună în dispoziție antiparalelă și să se interconecteze (CHEN și DOOLITTLE 1971). Din această suprapunere rezultă așezarea față în față a lizinei în poziția a 15-a a unui lanț γ și a glutaminei din poziția a 7-a a altui lanț γ. Apar astfel condițiile sterice adecvate pentru formarea unei legături încrucișate ε- (γ-glutamil) lizină. Procesul de interconectare include și formarea altor tipuri de legături ce par a fi de importanță secundară în stabilizarea rețelelor de fibrină.

Principalul agent stabilizator al rețelelor de fibrină este prezentat în literatură sub denumiri foarte variate: factorul XIII activat, fibrinoligază, fibrinază, factorul Laki-Lorand etc. Factorul XIII este activat de trombină, devenind factorul XIII *a;* neactivat, rămîne sub forma unui precursor enzimatic în sîngele circulant, ca mulți alți factori ai coagulării. Activarea sa fiziologică este rezultatul unei proteolize limitate ce are loc sub acțiunea trombinei, dar mai poate surveni și sub influența factorului X, tripsinei și chemotripsinei.

Trecerea de la rețele de fibrină solubile, spre rețele greu solubile și în final insolubile, reflectă formarea legăturilor între grupările lizinei și glutaminei ce rămîn descoperite prin eliminarea fibrinopeptidelor de către trombină. Se sugerează că grupul ε-amino al lizinei este donatorul primar în procesul de interconectare, în timp ce gruparea γ-carbonil a glutaminei ar acționa ca receptor. Interconectarea are loc în prezența ionilor de calciu, decurgînd conform schemei prezentate în *fig. 60*. Polimerul de fibrină și fibrină stabilizată prin aceste legături sînt geluri cu comportări diferite în soluții acide, polimerul fiind solubil, iar fibrina insolubilă. Blocarea grupărilor amino nu schimbă coagulabilitatea fibrinogenului pus în contact cu trombina, dar fibrina care rezultă nu mai poate fi stabilizată de factorul XIII activat. Același efect se obține și prin amidarea grupelor γ-amino ale lizinei. S-a constatat că interconectarea lanțurilor începe întotdeauna cu cele de tip γ; cînd toate zonele specifice formării acestor legături sînt blocate, intră în joc și lanțul α, în timp ce lanțul β ar fi ultimul implicat. Într-o primă etapă a procesului de stabilizare ar apare două legături ε-(γ-glutamil)-lizil, urmate în a doua etapă de formarea a două-patru legături similare și în lanțurile α. Introducerea de legături covalente intermoleculare de către factorul XIII activat variază cu concentrația fibrinogenului, modul de autoaliniere a macromoleculelor, existența de inhibitori etc. Cu cît sînt prezente mai multe lanțuri γ aliniate antiparalel, cu atît enzima poate acționa mai rapid pe aceste lanțuri pereche.

Scanned with OKEN Scanner





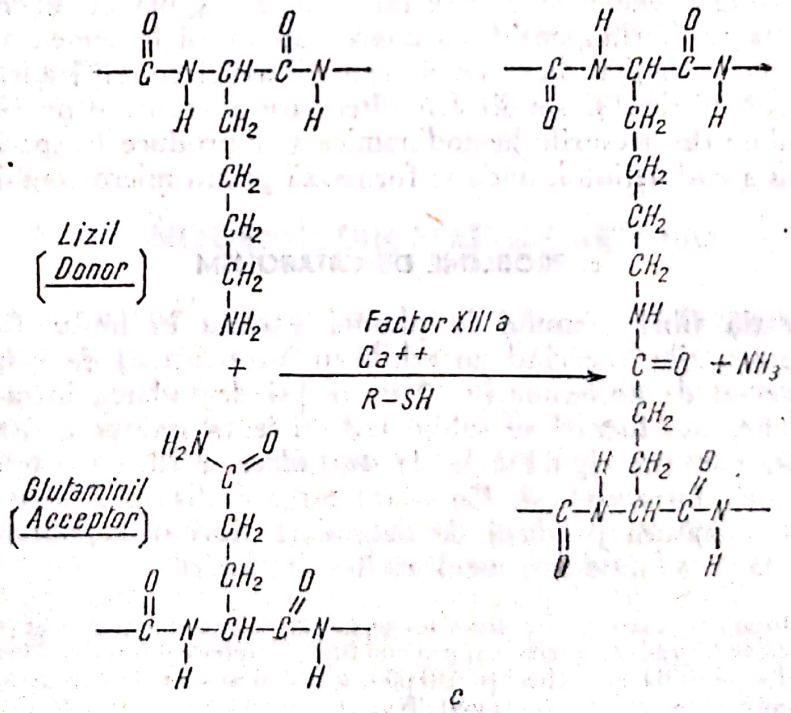


Fig. 60 a) Mecanismul stabilizării macromoleculelor de fibrină, sugerat de LORAND (1965–1970). b) Interconectarea macromoleculelor de fibrină prin transamidare, ca urmare a formării de legături covalente (după LORAND, 1970, cu permisiunea editurii Schattauer, Stuttgart). c) Modificări chimice induse în macromolecula de fibrină sub acțiunea factorului XIII activat (după FULLER și DOOLITTLE, 1966).

Scanned with OKEN Scanner

Studii asupra unor mixturi de fibrinogen şi fibrină, au evidenţiat afinităţi similare ale factorului XIII activat pentru ambele substrate. În concentraţii mici, fibrinogenul poate inhiba stabilizarea cheagurilor de fibrină prin acţiuni competitive cu factorul XIII activat pentru zonele reactive ale macromoleculei de fibrină. Cînd fibrinogenul este în exces faţă de fibrină, inhibarea zonelor de interconectare apare mai evidentă; la concentraţii de aproximativ 30 mg/ml, fibrinogenul devine sediul principal al procesului de interconectare. Apariţia de legături covalente între macromoleculele de fibrinogen, cu insolubilizarea ulterioară a respectivelor macromolecule este încă puţin studiată. Dacă această insolubilizare ar fi foarte frecventă în intimele îngroşate ale arterelor, acumulările de fibrinogen ar putea constitui stadii iniţiale în dezvoltarea plăcilor fibroase din ateroscleroză (KANAIDE şi SHAINOFF 1975). Prin capacitatea sa de a bloca zonele de interconectare, *fibrinogenul poate fi considerat un inhibitor fiziologic al stabilizării fibrinei.* Această capacitate dispare, după conversiunea fibrinogenului în fibrină, conversiune ce are loc în stadiile finale ale procesului de coagulare. Aşa s-ar explica de ce, în condiţii fiziologice, se formează doar cantităţi mici de fibrină în circulaţie şi nu se depun în organe şi ţesuturi reţele de fibrină insolubilă. În prezenţa însă a unui aport insuficient de fibrinogen, formarea şi stabilizarea fibrinei sînt favorizate, creîndu-se condiţiile apariţiei de microtrombi pe endoteliu sau în grosimea intimelor. Pe de altă parte, valori foarte ridicate ale fibrinogenului circulant favorizează interconectarea fibrinogenului însuşi în organe şi ţesuturi şi în primul rînd în peretele arterial. Rezultă agregări stabile de macromolecule ce se depun sub forma unor *pool*-uri insolubile cu aspect microscopic de fibrinoid, frecvent evidenţiabile atît în intimele îngroşate, cît şi în plăcile aterosclerotice.

Stresul hemodinamic poate favoriza acţiunea factorului XIII activat, întrucît „deschide" zonele de clivare din macromolecula de fibrinogen. Drept urmare, eliminarea fibrinopeptidelor apare mai rapid în zonele unde există o dragare puternică sau/şi turbulenţe. Se creează astfel condiţii adecvate conversiunii fibrinogen-fibrină şi stabilizării ulterioare a reţelelor de fibrină. Aceste modificări induse de stresurile hemodinamice s-ar produce în special în vecinătatea imediată a endoteliului, unde se formează primii microtrombi.

c. PROBLEME DE CATABOLISM

Concentraţia fibrinogenului în plasmă variază în limite foarte mici în decurs de ore sau zile, sugerînd un echilibru între sinteza de aproximativ 5 g pe zi, *turnover*-ul de aproximativ 80 de ore şi degradarea intra- şi extravasculară. În numeroase lucrări se subliniază eficienţa redusă a sistemului fibrinolitic din plasmă, principala cale de degradare a fibrinogenului fiind procesele de digestie intracelulară. Cu toată larga utilizare a metodelor imunologice pentru a măsura produşii de degradare fibrinogen/fibrină, nu se cunoaşte încă amănunţit modul şi locul acestei degradări.

Sînt mai bine studiate efectele digestiei cu *plasmină* (EC 3.4.4.14) din care rezultă produşi intermediari de degradare, precum şi produşi finali. Dintre cei intermediari, fragmentul X, cu greutate moleculară de aproximativ 240 000, a fost deseori detectat, fiind apoi clivat în două subfragmente denumite convenţional Y şi D; din subfragmentul Y ar rezulta produşi finali de tipul D şi E (MARDER 1970). Clivarea inegală a fiecărui produs intermediar, respectiv a fragmentului X în subfragmentele D şi Y şi a subfragmentului Y în produşii finali D şi E a fost corelată cu modelul macromolecular al fibrinogenului, constînd din trei sfere interconectate prin fragmente subţiri, aşa cum sugerează fig. 57. Plasmina degradează mai

Scanned with OKEN Scanner

ntii lanţurile α, ce nu conţin rezidii glucidice, apoi cele β şi în final lanţurile γ cu conţinutul cel mai bogat în glicoproteine. Cînd încep să fie hidrolizate şi lanţurile γ, degradarea lanţurilor α şi β se găseşte într-un stadiu avansat, explicîndu-se astfel heterogeneitatea produşilor obţinuţi prin digestia cu plasmină. Această heterogeneitate este reflectată de existenţa unei „familii" de fragmente de tip X, incluzînd porţiuni mari din lanţurile α, porţiuni mai mici din lanţurile β şi foarte mici din lanţurile γ.

Specificitatea acţiunii plasminei pare a fi legată de desfacerea legăturilor lizil şi arginil, rezultînd peptide mari care sînt apoi degradate în continuare de proteaze nespecifice de tipul tripsinei. Cînd enzima clivează aceste legături doar în lanţurile α şi β, produşii intermediari rezultaţi mai pot încă forma reţele de fibrină; dacă sînt rupte şi legăturile din lantul γ polimerizarea nu se mai produce. *In vitro*, rata cu care plasmina hidrolizează fibrinogenul sau fibrina pare a fi similară. *In vivo*, fibrina depusă pe suprafaţa endotelială este un substrat mai susceptibil la degradare proteolitică decît fibrinogenul circulant, datorită prezenţei în plasmă a numeroşi inhibitori ai enzimelor proteolitice. Astfel, s-a evidenţiat un complex format între plasmină şi macroglobulina α_2, iar inhibitorul α_1 antitripsină formează complexe inactive din punct de vedere biologic cu plasmina, trombina, tripsina şi chemotripsina. În special formarea de complexe enzimă-inhibitor conţinînd plasmină şi macroglobulina α_2 pare să constituie un mecanism principal în reglarea ratei catabolizării fibrinogenului şi fibrinei (MOSESSON 1974). Aceste complexe pot fi considerate ca rezervoare potenţiale de activitate proteolitică, protejînd în acelaşi timp plasmina de efectele inactivante ce pot fi exercitate de alţi inhibitori proteolitici circulanţi.

Produşii rezultînd din degradarea fibrinogenului de către plasmină inhibă polimerizarea fibrinogenului indusă de trombină. Monomerii de fibrină formează complexe cu fibrinogenul şi cu produşii săi de degradare, în special cu fragmentul D ce conţine COOH în zona terminală, reprezentînd punctul de cuplare cu monomerul de fibrină. S-au mai evidenţiat puncte de cuplare şi în nodulii constitutivi ai legăturilor disulfidice din macromolecula de fibrinogen.

3. FIBRINOGENUL DIN PERETELE ARTERIAL

Din datele prezentate se poate trage concluzia că *fibrinogenul se acumulează în intimele îngroşate şi sub alte forme decît sub aspectul reţelelor de fibrină.* Un prim produs de degradare a macromoleculei de fibrinogen, lipsit doar de fibrinopeptidul A, dar avîndu-l pe cel B, ar putea forma complexe cu macromolecula nativă. Alţi produşi de degradare mai avansată, de tipul subfragmentelor Y şi mai ales D, ar constitui, de asemenea, complexe cu macromolecula nativă. Aceşti compuşi pot deveni insolubili şi necoagulabili, rezistenţi la trombină şi la plasmină; acumulaţi ca depozit amorf, ei sînt descrişi la examenele microscopice sub denumirea de material „fibrinoid".

Metodologia de care dispunem spre a evidenţia fibrinogenul, produşii săi de degradare şi complexele formate este încă nesatisfăcătoare, deşi s-au făcut progrese considerabile în ultimile două decenii. Marea majoritate a cercetătorilor folosesc numai tehnicile clasice pentru colorarea fibrinei, în special hematoxilina fosfotungstică şi menţionează absenţa acumulărilor de fibrinogen sau fibrină cînd aceste tehnici dau rezultate negative. Dacă se utilizează metode

Scanned with OKEN Scanner

histochimice cu anticorpi antifibrinogen sau antifibrină cuplaţi cu substanţe fluorescente, atunci se constată cu surprindere abundenţa acumulărilor în zone unde hematoxilina fosfotungstică nu a evidenţiat reţelele de fibrină. Folosirea anticorpilor cuplaţi cu fluoresceină a permis să se demonstreze acumulări intimale de fibrinogen în aortă, apărute imediat după naştere. Sînt pre-

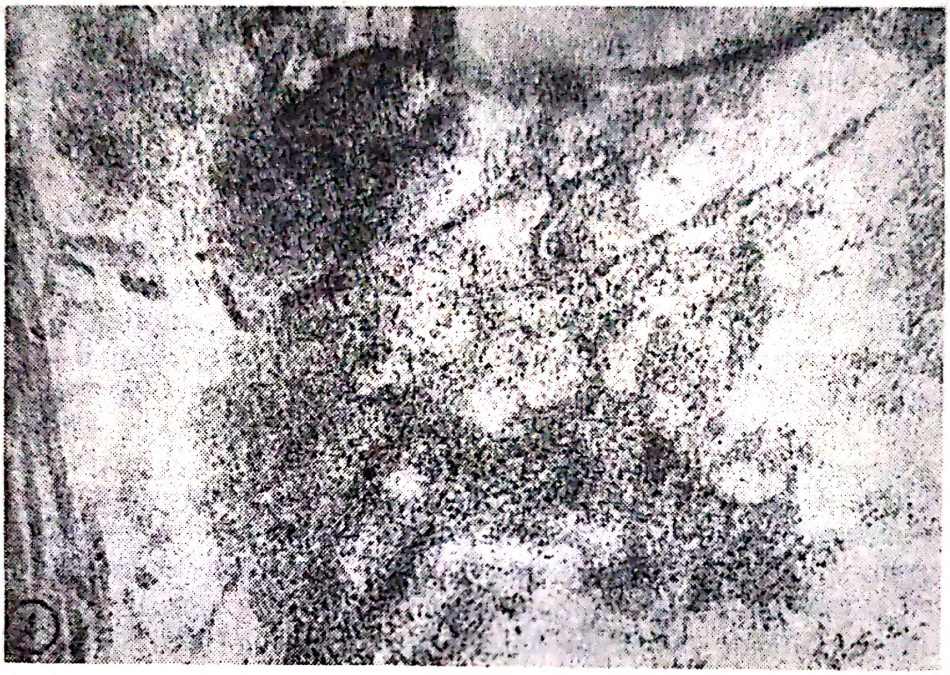


Fig. 61 **Evidenţierea electronomicroscopică a acumulărilor de fibrinogen în striuri lipidice ale aortei, prin folosirea feritinei legată de anticorpi antifibrinogen, × 75600 (după HAUST, MORE, BENSCOME, BALLIS 1965, cu permisiunea editurii Academic Press, New York).**

zente în zonele cunoscute a avea o permeabilitate crescută la trecerea macromoleculelor din plasmă, cum ar fi regiunea din jurul valvulelor semilunare, cicatricea canalului arterial, peretele posterior al arcului aortic, emergenţele intercostalelor. Aceste zone cu depuneri *post natale* de fibrinogen sînt şi sediul apariţiei primelor striuri lipidice ale aortei (WOOLF 1961). Folosirea feritinei cuplată cu anticorpii antifibrinogen a permis efectuarea unor investigaţii şi la microscopul electronic, deşi periodicitatea reţelelor de fibrină este greu de deosebit de cea a fibrilelor de colagen pe cale de maturare. În *fig. 61* prezentăm un striu lipidic, aparent fără depozite de fibrină la coloraţiile de rutină, în care se constată bogăţia de macromolecule de fibrinogen după administrarea de feritină cuplată cu anticorpi antifibrinogen (HAUST şi col. 1965).

Peretele arterial are o evidentă activitate tromboplastică, fibrinogenul acumulat în intimă fiind supus conversiunii în fibrină, iar fibrina stabilizată sub formă de reţele dense insolubile. Dacă se găsesc în intimele îngroşate ale arterelor cantităţi mari de fibrinogen, această activitate tromboplastică nu mai poate fi evidenţiată, întrucît fibrinogenul formează complexe cu macromoleculele de fibrină inhibînd stabilizarea lor şi formarea de reţele insolubile. În consecinţă apare un material aparent amorf, de tipul fibrinoidului. Acest material ar mai putea rezulta şi din interacţiunea fibrinogenului cu produşii săi de proteoliză rezultaţi din digestia cu plasmină, sau din interacţiunea cu proteine

Scanned with OKEN Scanner

bazice pătrunse în intimă împreună cu alţi componenţi ai plasmei sau eliminate din celulele musculare netede ale peretelui arterial. În special cînd apar necroze celulare masive, histonele legate de cromatină precipită fibrinogenul sub forma unui material amorf (STEWART şi NIEWIAROWSKI 1971). Dacă se injectează tromboplastina, se produce o îngroşare intimală şi se formează microtrombi în intimele aortei şi a altor artere mari, fără a ajunge însă la aspectul de placă fibroasă cu caracter ocluziv. Asocierea şi a unei diete bogate în colesterol este urmată de apariţia a numeroase lipofage în circulaţie şi în jurul microtrombilor (GORE şi col. 1963). Din datele existente în literatură se poate constata că nu dispunem încă de un model experimental adecvat pentru a se studia comportamentul fibrinogenului în intimele îngroşate ale arterelor şi rolul fibrinei în geneza plăcilor aterosclerotice.

Activitatea fibrinolitică a endoteliului a fost prezentată în capitolul III, unde s-a menţionat metoda cea mai larg folosită pentru evidenţierea acestei activităţi şi rezultatele ce pot fi obţinute (vezi fig. 21). În comparaţie cu endoteliul, ţesutul conjunctiv intimal are o capacitate fibrinolitică redusă datorită slabei conversiuni la acest nivel, a plasminogenului în plasmină. Totuşi, s-au putut evidenţia activatori ai plasminogenului şi în peretele arterial, unii dintre ei persistînd chiar *post mortem* (AOKI 1974). Un astfel de activator acţionează între pH-urile 4 şi 8, avînd o greutate moleculară de aproximativ 80 000 şi multe similarităţi structurale cu urokinaza deşi nu pare a fi identic cu ea. În stresuri emoţionale, după fumat şi în general în toate condiţiile care duc la descărcări de catecolamine, s-au notat intensificări ale conversiunii plasminogen-plasmină. Pe de altă parte, dietele bogate în colesterol diminuă rata acestei conversiuni, hiperlipemiile asociindu-se cu inhibarea activării plasminogenului şi conversiunii lui în plasmină, probabil prin secvestrarea activatorului plasminogenului în lizozomii celulelor musculare netede. Rezultate demonstrative în acest sens au fost obţinute după o dietă conţinînd 40% unt, administrată la şobolan timp de nouă luni, dietă ce a produs o hiperstabilizare a membranelor lizozomale din celulele musculare netede (BEARD 1971). Cînd apar necroze ale acestor celule, capacitatea fibrinolitică a intimei dispare şi se intensifică cea tromboplastică. Eliberarea de tromboplastină fără o balanţă adecvată de agenţi fibrinolitici ar constitui una dintre principalele cauze a evoluţiei leziunilor de ateroscleroză spre forme obstructive ce induc manifestările clinice ale bolii.

C. TROMBOCITELE

1. DATE INTRODUCTIVE

Importanţa atribuită trombocitelor în etiopatogenia aterosclerozei a crescut considerabil în cursul ultimilor ani, depăşind cu mult cadrul simplist al participării doar la formarea de tromboze cu caracter obstructiv. În afara iniţierii constituirii unui trombus ce va fi ulterior stabilizat prin apariţia de reţele de fibrină insolubile, trombocitele mai sînt implicate în procesul de îngroşare intimală, de proliferare nodulară ce duce la formarea plăcilor aterosclerotice, în procese degradative ale fibrelor elastice şi de colagen din peretele arterial, în reglarea tonusului musculaturii arterelor, în metabolismul

Scanned with OKEN Scanner

mucopolizaharidelor acide, proteinelor şi fosfolipidelor, în eliberarea de catecolamine, histamină, serotonină şi numeroase alte substanţe biologic active.

Un cîmp nou de investigaţie ce cîştigă tot mai mult teren este rolul agregatelor trombocitare în producerea morţii subite şi în extinderea zonelor de infarct de miocard (FLEISCHMAN şi col. 1975). Se susţine că agregatele trombocitare ar constitui mecanismul patogenic principal în anumite forme ale tromboembolismului arterial, responsabil de infarcte cerebrale, renale sau pulmonare; aceste agregate trombocitare au fost de asemenea implicate în atacurile ischemice „trecătoare" evidenţiate la tineri, fără leziuni aterosclerotice stenozante în arterele coronare (WU şi HOAK 1975). În sprijinul acestei implicări ar pleda, printre altele, rezultatele mulţumitoare obţinute prin administrarea de agenţi antitrombocitari de tipul aspirinei, dipiridamolului, sulfinpirazonei etc. Tot în sprijinul acestei implicări pledează şi rezultatele anumitor cercetări experimentale. Încă din primii ani ai veacului nostru au fost publicate lucrări în care se descriau necroze miocardice obţinute după administrare de adrenalină. Se susţine că aceste necroze rezultă din trombocitele agregate sub acţiunea catecolaminelor şi care obstruează vasele mici intramiocardice (HAFT şi col. 1972). S-a mai evidenţiat similitudinea aspectului microscopic al leziunilor de necroză miocardică obţinută după ligaturarea vaselor mici şi după agregarea trombocitelor indusă de catecolamine, sau după injectarea de substanţe agregante (ADP, trombină) direct în artera coronară. La examenul microscopic necroza după ligatură nu poate fi deosebită de cea rezultînd din masele de agregate trombocitare ce obstruează vasele intramiocardice (JØRGENSEN şi col. 1967). În sfîrşit mai menţionăm că pacienţii cu feocromocitom cu evoluţie letală prezintă necroză miocardică similară cu cea obţinută experimental după administrare de catecolamine şi în special de adrenalină. Necroze miocardice au mai fost semnalate la pacienţii în stări de şoc, supuşi unor perfuzii prelungite cu noradrenalină, precum şi la subiecţi care înainte de exitus au avut stresuri psihice severe şi prelungite şi un nivel ridicat al catecolaminelor circulante (NESTER şi col. 1967). În toate aceste cazuri mecanismul patogenic implicat în apariţia necrozelor a fost agregarea masivă a trombocitelor cu obstruarea consecutivă a lumenului vaselor mici intramiocardice. Această agregare mai este considerată responsabilă şi pentru numeroase manifestări clinice ale cardiopatiei ischemice, a morţii subite, a unor atacuri sincopale şi mai ales în apariţia turburărilor de conducere intramiocardică. S-a incriminat existenţa probabilă a agregatelor trombocitare şi la pacienţii cu infarct, fără tromboze ocluzive în arterele coronare şi care au ajuns la *exitus* prin turburări de ritm de tipul fibrilaţiei ventriculare (EHRICH şi SHINOHARA 1964; HACKEL şi col. 1969; BAROLDI şi col. 1974). După cum am mai menţionat, agregatele trombocitare sînt considerate responsabile şi de evoluţia mai rapidă şi mai gravă a leziunii de infarct. În sprijinul acestei afirmaţii pledează rezultatele unor cercetări experimentale care au demonstrat, după injectare de trombocite marcate, agregarea masivă a acestor celule în vasele mici din zona de ischemie şi necroză miocardică, cu agravarea evidentă a evoluţiei leziunilor. Administrarea de aspirină a dus, dimpotrivă, la diminuarea suprafeţei miocardice necrozate şi la vindecare mai rapidă (MOSCHOS şi col. 1973).

Implicarea trombocitelor în aterogeneză a devenit şi mai complexă pe măsură ce sînt evidenţiate acţiunile atît de variate exercitate de prostaglandine asupra peretelui arterial, precum şi de tromboxani şi de alţi produşi de

Scanned with OKEN Scanner

metabolism ai acidului arahidonic. Asupra tuturor acestor probleme vom prezenta numeroase date în paginile care urmează.

În linii mari se poate susţine rolul trombocitelor în etiopatogenia aterosclerozei prin: erodarea endoteliului şi alterarea structurii peretului arterial; producerea de trombi pe endoteliul erodat şi în grosimea intimelor arteriale; eliberarea de factori ce stimulează îngroşarea intimei şi formarea plăcilor aterosclerotice; eliberarea de prostaglandine, tromboxani, prostacicline şi alte substanţe ce influenţează metabolismul peretelui arterial.

2. PARTICULARITĂŢI STRUCTURALE ŞI FUNCŢIONALE

a. ORGANIZARE CELULARĂ

Trombocitele sînt celule discoidale, cu diametrul între doi şi patru microni, lipsite de nucleu, dar conţinînd în citoplasmă numeroase granule şi sisteme canaliculare. În mod didactic s-ar putea descrie trei zone ale protoplasmei celulei: o zonă periferică, *de recepţie*, incluzînd membrana şi teritoriile adiacente; o zonă intermediară, *contractilă*, bogată în microtubi în care sînt acumulate proteine de tipul celor prezente în toate celulele musculare; o zonă internă, *secretorie*, ce cuprinde numeroase granule, corpi denşi, mitocondrii, lizozomi etc.

Suprafaţa celulei constituie zona cea mai importantă din punct de vedere funcţional, prin intermediul ei realizîndu-se procesele de adeziune, agregare şi degranulare ce au implicaţii în formarea trombusului şi în patogenia aterosclerozei. Membrana trombocitului este trilaminată, acoperită cu un material amorf de tip mucoid ce pare a juca un anumit rol în procesele de adeziune. În compoziţia membranei rolul dominant îl deţin fosfolipidele, în special fosfatidil colina. Datorită acestei bogăţii în fosfolipide membrana este degradată de fosfolipaze. Suprafaţa trombocitului ar avea zone active pentru recepţionarea stimulilor ce iniţiază reacţia de eliberare a granulelor. S-a demonstrat că ADP-ul se leagă de receptori specifici bogaţi în fosfolipide şi în special de fosfatidil colina membranei trombocitului (SCHICK 1974). Fosfolipidele din membrana trombocitului sînt foarte sensibile la variaţiile cantitative ale colesterolului. Cu cît este încorporat în respectiva membrană mai mult colesterol, cu atît creşte vîscozitatea şi se reduce gradul de permeabilitate. Un trombocit cu exces de colesterol în membrană va răspunde astfel inadecvat stimulilor, producîndu-se în cantităţi reduse şi cu întîrziere eliberarea acidului arahidonic din fosfolipide, sub acţiunea unei fosfolipaze. Cantitatea redusă de acid arahidonic liber va antrena o sinteză redusă de prostaglandine, tromboxani şi prostacicline cu toate consecinţele variate ce rezultă pentru celulă şi mediul extracelular. Excesul de colesterol din membrană influenţează şi metabolismul AMP-ului ciclic (SINHA şi col. 1977), şi circulaţia calciului între membrană şi aparatul contractil al celulei (MALMSTEN şi col. 1976). Rezultatul acestor modificări se poate exterioriza în condiţii severe prin necroza trombocitului care se asfixiază datorită permeabilităţii extrem de scăzute a membranei bogate în colesterol, iar în condiţii mai puţin severe printr-un răspuns neadecvat la stimuli fiziologici. Acest răspuns apare de cele mai multe ori sub aspectul unei creşteri semnificative a susceptibilităţii la acţiunea factorilor agreganţi de tipul ADP-ului, adrenalinei, colagenu-

Scanned with OKEN Scanner

lui, trombinei etc. La baza acestei susceptibilităţi se află recepţionarea defectuoasă a stimulului de către o membrană cu receptori modificaţi din punct de vedere fizico-chimic. Pare a fi alterată şi rata eliberării de pe membrana trombocitelor a factorilor de coagulare ataşaţi pe respectiva membrană şi în primul rînd a fosfolipoproteinei cunoscută sub denumirea de factorul 3 trombocitar ce este eliberat în momentul agregării. Excesul de colesterol mai poate modifica şi rata eliberării din membrana trombocitului a unor factori procoagulanţi, independenţi de factorul 3 trombocitar, avînd structură lipoproteică şi potenţînd interacţiunea factorilor XI activat, VIII, IX şi X pentru a forma factorul X activat.

În zona intermediară a protoplasmei trombocitului predomină un sistem tubular dens în care sînt acumulate proteine contractile. Au fost evidenţiate actină, miozină (respectiv trombostenine A şi M) şi tropomiozină, alcătuind miofilamente similare celor din celulele musculare netede. Trombosteninele reprezentînd 50% din proteinele celulei, sînt responsabile de modificările de formă ale trombocitelor, precum şi de procesul de eliberare a granulelor şi a anumitor substanţe acumulate în protoplasmă. Importanţa procesului de contracţie în funcţionalitatea trombocitului este reflectată şi de cantităţile mari de ATP, mai importante decît în numeroase alte celule, ATP ce este consumat proporţional cu numărul undelor contractile. Proteinele contractile ar exista aglomerate sub formă de complexe disociabile în zona situată sub membrana celulară; conform altor ipoteze, aceste complexe ar pătrunde şi prin membrană sub formă de receptori de suprafaţă susceptibili la acţiunea trombinei (GANGULY 1975). Trombosteninele au fost implicate şi în legarea specifică a ADP-ului şi a adrenalinei, precum şi în cuplarea modificărilor lumenului şi lungimii canaliculelor cu procesul de contracţie. În sprijinul acestei ipoteze pledează constatarea că agenţii care produc depolimerizarea sau/şi degradarea proteinelor contractile diminuă sau blochează reacţia de eliberare a granulelor trombocitare.

Zona centrală, secretorie, a protoplasmei trombocitului conţine variate tipuri de vacuole, vezicule, granule, corpi denşi precum şi mitocondrii, lizozomi şi alte infrastructuri încă neidentificate. În aceste organite se găsesc stocate glicogen, fibrinogen, catecolamine, serotonină, histamină, ADP, ATP şi numeroase enzime lizozomale. Opacitatea la raze X a corpilor denşi a fost corelată cu conţinutul lor în serotonină şi calciu. Mai menţionăm prezenţa glucozo-6-fosfat dehidrogenazei şi a 6-fosfogluconat dehidrogenazei, sugerînd capacitatea trombocitelor de a metaboliza glucoza pe calea şuntului pentozic. Sînt prezente în protoplasmă şi numeroase tipuri de nucleotide apte a asigura necesităţile energetice ale celulei. Sistemul vacuolar ar permite să se elimine din citoplasmă anumite substanţe şi în afara proceselor de contracţie. Mai menţionăm că trombocitul posedă un sistem canalicular ce leagă centrul cu exteriorul celulei, deschizîndu-se în spaţiile intercelulare sau în masa sîngelui circulant. În acest sistem canalicular pot pătrunde, în mod pasiv, particule de dimensiuni mai mici şi înainta spre zona centrală a citoplasmei. Rezultatele unor studii în care s-au utilizat feritina, ionii de plumb, torotrastul şi anumite virusuri au demonstrat în mod convingător acest proces de pătrundere pasivă. Proprietăţile biologice, chimice şi de suprafaţă ale particulelor astfel pătrunse pot influenţa metabolismul celulei şi procesul de contracţie. În acest sistem canalicular deschis al trombocitului au fost evidenţiate şi complexe

Scanned with OKEN Scanner

antigen-anticorp, precum şi lipoproteine. Un rol important în funcţionalitatea celulei îl joacă ionii de calciu captaţi de trombocite. Cantitatea cea mai mare pare a se acumula în sistemul tubular dens unde se produc valurile de contracţie şi unde ar exista vezicule bogate în calciu ce sînt împinse spre membrană care ar funcţiona ca o pompă de extruziune a calciului, eliminînd cationii din citoplasmă în mediul extern. Mitocondriile au fost de asemenea implicate în reglarea calciului intratrombocitar, iar un sistem adiţional de acumulare îl reprezintă corpii denşi, în special membranele acestor organite. Persistă încă multe incertitudini privind localizarea acumulărilor de ioni de calciu în trombocite şi locul de concentrare a formelor active ale acestor ioni (KÄSER-GLANZMANN şi col. 1978).

b. MODIFICĂRI INDUSE DE PROCESUL DE AGREGARE

Agregarea trombocitelor poate avea semnificaţii variate constituind un proces fundamental în oprirea sîngerărilor traumatice dar şi un mecanism implicat în patogenia aterosclerozei.

Sîngele circulant este în contact cu o suprafaţă netrombogenă, endoteliul arterei. Masa de trombocite se alinează paralel cu direcţia de scurgere a coloanei de sînge, cu excepţia unor trombocite care sînt reţinute la nivelul joncţiunilor dintre celulele endoteliale, asupra cărora ar exercita o acţiune de „ungere". Această acţiune ar fi necesară pentru păstrarea integrităţii structurale şi funcţionale a respectivelor joncţiuni.

Raporturile dintre trombocitele din sîngele circulant şi suprafaţa endotelială se modifică atunci cînd se schimbă geometria vasului sau *pattern*-ul de scurgere, sau cînd apar modificări în comportarea trombocitelor. Rolul cel mai important în tulburarea raporturilor trombocit-perete arterial îl au descuamările şi erodările celulelor endoteliale, permiţînd fibrilelor de colagen din zona subendotelială să vină în contact direct cu sîngele circulant. Asupra acestor consecinţe vom reveni pe larg în paginile următoare, principalul efect fiind stimularea adezivităţii trombocitelor, urmată de agregare şi degranulare. Se mai consideră posibilă adeziunea trombocitelor şi pe suprafeţe endoteliale nealterate, dar pe care s-a depus un film de fibrină la care aderă elemente din sîngele circulant. Tot ca favorizanţi ai aderării trombocitelor ar acţiona şi complexele antigen-anticorp depuse pe suprafaţa endotelială. În sfîrşit s-a mai constatat că endoteliul supus acţiunii trombinei devine un loc de elecţie pentru adeziunea trombocitelor, aderare ce este inhibată de heparină. În esenţă se susţine că există condiţii care fac ca trombocitele să adere nu numai la zonele cu endoteliul erodat, ci şi la cele cu endoteliul aparent nealterat (MUSTARD şi col. 1977). Din peretele aortic de iepure a fost izolată o enzimă legată de membrana celulelor musculare şi probabil şi a celor endoteliale, care exercită în mod fiziologic o acţiune de inhibare a acumulărilor de trombocite. Această enzimă diminuă agregarea apărută sub acţiunea ADP-ului, catalizînd degradarea acestei substanţe în AMP şi adenozină, ambii produşi inhibînd procesul de agregare (LIEBERMAN şi col. 1977). Pe de altă parte, în plasmă ar exista un factor care stimulează agregarea (PAF) şi care circulă în strînsă asociere cu factorul VIII al coagulării. Factorul stimulator al agregării s-ar cupla cu receptorii specifici de pe membrana trombocitului şi apoi, prin legături electrostatice, ar favoriza apropierea dintre celule pînă se produce procesul de agregare (COOPER şi col. 1977).

Scanned with OKEN Scanner

Spectrul substanţelor şi agenţilor ce favorizează sau/şi produc agregarea trombocitelor pe suprafaţa peretelui arterial este extrem de larg, incluzînd: adenozindifosfatul (ADP), trombina, factorul X activat, acidul arahidonic, prostaglandinele PGG_2 şi PGH_2, tromboxanul A_2, acizii graşi saturaţi, adrenalina, noradrenalina, plasmina, tripsina, papaina, elastaza, colagenaza, subtilizina, antigenii antitrombocitari, complexe antigen-anticorp, agregate de γ-globulină, anumite virusuri şi bacterii, endotoxine şi toxine (mai ales de tip stafilococic), anumite veninuri de şarpe, vazopresina şi în special colagenul, asupra căruia vom insista în mod deosebit. De asemenea vom insista asupra efectelor agregante potenţiale ale anumitor stresuri hemodinamice.

Agregarea trombocitelor în condiţii experimentale este obţinută prin adăugarea, în mediul de suspensie, a unor agenţi care acţionează şi în condiţii fiziologice — ADP-ul, trombina, factorul X activat. ADP-ul este singurul nucleotid ce agregă trombocitele şi tot el pare a media agregarea indusă de trombină, colagen, acizi graşi etc. Agregarea prin ADP este reversibilă dacă substanţa administrată este în concentraţie redusă, întrucît produşii rezultînd din degradarea ADP-ului, respectiv AMP şi adenozina acţionează ca inhibitori ai agregării. În condiţii fiziologice o ADP-ază plasmatică ar regla rata acestei degradări, creînd condiţii adecvate pentru a nu se produce agregarea trombocitelor decît în cazul opririi sîngerărilor traumatice.

Mecanismul acţiunii ADP-ului este încă puţin cunoscut, fiind implicate în primul rînd modificări ale sarcinilor electrice de suprafaţă ale membranei trombocitare; în al doilea rînd pare a interveni reducerea nivelului AMP-ului ciclic. Acest nivel este dependent de activitatea adenil ciclazei ce catalizează formarea de AMP ciclic din ATP, precum şi de activitatea fosfodiesterazei, ce catalizează formarea de 5-AMP din AMP ciclic. Trombocitele de om ar conţine trei nucleotid fosfodiesteraze ciclice distincte: o fosfodiesterază specifică pentru AMP-ul ciclic, alta pentru GMP-ul ciclic şi o nucleotid fosfodiesterază. Aceste enzime pot fi inhibate în mod electiv, fosfodiesteraza specifică a AMP-ului ciclic fiind inactivată de papaverină, teofilină, dipiridamol, cafeină etc. (ASANO şi col. 1977). Inhibitorii fosfodiesterazei inhibă şi agregarea trombocitelor, în acelaşi sens acţionînd şi stimulatorii adenil ciclazei, de ex. PGE_1 şi adenozina.

Mecanismul prin care trombina produce agregarea trombocitelor implică într-o primă etapă legarea ei de receptorii specifici de pe membrana periferică a celulelor, reprezentaţi probabil de proteine contractile de tipul miozinei. Sub acţiunea trombinei se produce o fragmentare a miozinei şi în acelaşi timp o eliberare de ADP la primul val de contracţie, procesul de agregare fiind apoi preluat de reacţiile induse de ADP. Catecolaminele care se leagă de receptorii de tip adrenergic prezenţi pe suprafaţa membranei trombocitului, induc tot un prim val de contracţie cu eliberare de ADP, ce determină apoi succesiunea reacţiilor care produc agregarea.

La microscopul electronic trombocitele în curs de agregare nu prezintă la început alterări celulare severe, membrana periferică rămînînd intactă. Treptat, încep însă să apară neregularităţi de contur ale acestei membrane, cu aspect de pseudopode, rezultînd o interdigitare a pseudopodelor dintre trombocitele învecinate. După această interdigitare protoplasma se balonizează şi apare o migrare a granulelor, reflectînd contracţia celulei.

În hemostază, ca şi în tromboză, aderarea şi agregarea trombocitelor sînt urmate de eliberarea conţinutului celular, eliberare care intensifică în conti-

Scanned with OKEN Scanner

nuare agregarea. Procesele ce iau naştere în trombocite nu sînt ciclice, sau de scurtă durată, ca în alte celule secretante, ci autoîntreţinute. În plus, ele capătă un caracter tot mai sever şi mai destructiv cu cît această autoîntreţinere se prelungeşte. Prin aceste procese în lanţ se pun în libertate numeroase substanţe biologic active ce pot participa direct sau indirect în patogenia aterosclerozei. Datele acumulate în acest domeniu au permis nu numai o considerabilă îmbogăţire a cunoştinţelor în acest domeniu, ci şi încercări de terapeutică, pe linia prevenirii primare a aterosclerozei.

c. REACŢIA DE ELIBERARE

Această reacţie include atît eliberarea selectivă a anumitor constituenţi ai trombocitelor (mecanism secretor specific), cît şi eliberarea generalizată a tuturor constituenţilor, urmată de liza celulei.

Mecanismul secretor specific a fost comparat cu eliberarea de catecolamine din medulosuprarenală, fiind eliminate substanţe stocate în anumite tipuri de vezicule şi granule, în timp ce substanţele acumulate în mitocondrii şi membrane nu sînt deversate la exteriorul celulei. Secreţia specifică este dependentă de energia care îi este furnizată trombocitului atît prin glicoliză, cît şi prin fosforilarea oxidativă. Această secreţie poate fi considerată ca un răspuns la un stimul specific aşa cum apare în celulele glandelor endocrine sau exocrine, eliberarea anumitor granule fiind constant cuplată cu existenţa unui anumit stimul. Se consideră că reacţia de eliberare poate fi divizată în trei etape succesive: recepţia, transmisia şi expulzia.

Recepţionarea stimulului se face, fără consum de energie, pe receptorii specifici de membrană. Transmisia stimulului implică în primul rînd activarea calciului asociată cu variaţii cantitative ale AMP-ului ciclic, iar expulzia rezultă din deplasarea granulelor determinată de punerea în funcţiune a aparatului contractil. Ambele aceste procese sînt mari consumatoare de energie. Majoritatea stimulilor ce acţionează asupra membranei trombocitului produc o activare a fosfolipazei A_2 ce catalizează hidroliza legăturii ester la C_2 al fosfatidil colinei şi fosfatidil inozitolului. Prin această reacţie este eliberat arahidonatul care suferă o conversiune în endoperoxizi prostaglandinici intermediari sub acţiunea ciclo-oxigenazelor, rezultînd PGG_2, PGH_2 şi tromboxanul A_2 (HAMBERG şi col. 1974; BILLS şi col. 1976). Sinteza peroxizilor intermediari nu este un proces continu, ci apare numai la acţiunea unui stimul de tip ADP, trombină, adrenalină, colagen etc. Aceste substanţe instabile, mai ales tromboxanul A_2, produc atît agregarea trombocitelor cît şi reacţia de eliberare. Prostaglandina G_2, sub forma unui endoperoxid labil este implicată şi în eliberarea de Ca^{2+}, mai ales după ce a fost convertită în tromboxanul A_2. Această ultimă substanţă ar transporta calciul din depozitele intracelulare spre miofilamente, reglînd balanţa excitaţie — inhibiţie (GERRARD şi col. 1977). Nu se cunoaşte încă cum se face cuplarea tromboxanului cu zonele membranei celulare bogate în calciu şi cu trombosteninele contractile. Cuplarea declanşează contracţia trombocitelor agregate, rezultînd „fuzionarea" membranelor diferitelor organite cu aparatul contractil, eliminarea conţinutului anumitor vezicule, granule şi corpi denşi în lumenul acestor canalicule sau/şi deplasarea veziculelor, granulelor şi corpilor denşi ca atare spre periferia celulei. Întrucît nu s-au semnalat creşteri ale permeabilităţii membranei celulare în cursul procesului de eliminare a materialului stocat, se consi-

Scanned with OKEN Scanner

deră că principala cale de excreţie o reprezintă sistemele canaliculare. Fuzionarea veziculelor şi a granulelor cu sistemul canalicular nu trebuie privită ca un proces mecanic rezultat din contracţie, deoarece nu toate componentele stocate sînt eliminate din celulă, sugerînd mai curînd existenţa unei excreţii selective, de tip glandular.

Materialul eliberat din trombocitele agregate şi contractate conţine: adenin nucleotizi de tip ATP şi ADP, serotonină, calciu, magneziu, potasiu, histamină, adrenalină, factorii II şi V ai coagulării, factorii 3 şi 4 trombocitari, prostaglandine şi produşi intermediari, tromboxani, prostacicline, fibrinogen, mucopolizaharide acide, aminoacizi liberi, cantităţi mici de proteine şi de lipoproteine, enzime lizozomale (fosfataze acide, β-galactozidază, β-glucuronidază, N-acetilglucozaminidază, α-manozidază, catepsină, aril sulfatază, fosfolipază, elastază, colagenază etc.). Se mai eliberează o proteină bazică ce produce degranularea mastocitelor, un factor chemotaxic pentru leucocite, un factor ce stimulează proliferarea celulelor musculare netede din peretele arterial şi numeroase alte substanţe parţial identificate sau încă neidentificate. Componenţii cei mai rezistenţi la eliminare par a fi enzimele lizozomale, unele enzime legate de membrane, precum şi o anumită fracţie din ATP-ul şi ADP-ul trombocitar. Nu insistăm în acest subcapitol asupra modului cum acţionează substanţele eliberate din trombocite în zona pericelulară. Atragem atenţia însă asupra existenţei unor factori ce produc creşterea permeabilităţii endoteliului, factori ce pot altera structural endoteliul şi zona subendotelială, precum şi factori ce stimulează proliferarea celulelor musculare din intimă. Toate aceste trei tipuri de acţiuni sînt net aterogene. Tot în sens aterogen trebuie privită şi activarea trombinei de către produşii eliberaţi din trombocite, urmată de conversiunea fibrinogen-fibrină şi apariţia de reţele de fibrină care stabilizează trombusul celular. Eliminarea compuşilor stocaţi în trombocite ar avea loc în două valuri, primul sub acţiunea ADP-ului, eliberînd în special catecolaminele, serotonina şi histamina, în timp ce al doilea val, sub acţiunea prostaglandinelor este urmat de golirea conţinutului celular. Eliminarea prin primul val de contracţie mai este privită ca incluzînd numai *pool*-ul secretor, iar cea finală *pool*-ul de stocaj ce cuprinde şi enzime lizozomale. Substanţele prezente în primul val de material eliminat din celulă sînt apte a potenţa agregarea şi autoîntreţine acest proces, cele prezente în al doilea val induc, cu eliminarea lor, şi liza trombocitelor. Dacă acţiunea ADP-ului este prea slabă, sau *pool*-ul de secreţie deficitar, agregarea rămîne incompletă, efectele fiind favorabile în sensul prevenirii aterosclerozei şi nefavorabile din punct de vedere al producerii hemostazei.

d. EFECTELE STRESURILOR HEMODINAMICE

Leziunile de ateroscleroză se localizează în special la nivelul zonelor de bifurcaţie şi emergenţă unde stresul de dragare are intensitatea maximă, iar endoteliul prezintă o permeabilitate şi un *turnover* crescut. În aceste zone există unde turbulente şi reflectate, ambele cu caracter aterogen. Respectivele zone sînt şi sediul unui contact mai intens între trombocite şi suprafaţa endotelială, mai ales în regiunile unde stresul de dragare a produs alterări endoteliale mergînd pînă la eroziuni. Importanţa trombocitelor în formarea plăcilor aterosclerotice ce se dezvoltă în aceste zone a fost demonstrată prin introducerea unui cateter în aorta iepurelui normal şi trombocitopenic. La ani-

Scanned with OKEN Scanner

malul normal, traumatismul mecanic al canulei lăsată timp de mai multe săptămîni în lumenul aortei, produce mai întîi eroziuni endoteliale, apoi proliferări nodulare reparatoare ce se transformă în timp în placă aterosclerotică conținînd și cristale de colesterol, deși dieta era de tip standard. La animalul trombocitopenic, leziunile au prezentat o dezvoltare întîrziată și mai puțin severă (MOORE 1973; MOORE și col. 1976). Un alt experiment a evidențiat apariția de leziuni bogate în lipide la iepurele ținut la dietă standard, dacă se introducea de șase ori în aortă, în decurs de două săptămîni, un cateter prevăzut cu un mic balon la capătul terminal. Leziunile au apărut în zonele unde endoteliul a regenerat, prevalînd în jurul emergențelor. Dacă animalele au fost supuse acțiunii medicamentelor ce inhibă agregarea trombocitelor, nu s-a mai produs îngroșarea intimei și formarea de leziuni (HARKER și col. 1976). Acest rezultat, împreună cu numeroase alte date acumulate în acest domeniu, au permis să se tragă concluzia că pentru a înțelege etiopatogenia aterosclerozei este necesar să cunoaștem mecanismul apariției eroziunilor endoteliale (ROSS și GLOMSET 1976). Toate condițiile care produc agregări trombocitare, cu eliminarea substanțelor și enzimelor din trombocite, favorizează alterarea endoteliului și implicit măresc susceptibilitatea lui la agresiunile produse de stresul de dragare. În acest sens se menționează complexele antigen-anticorp ce apar în boala serului și care ar altera endoteliul prin intermediul agregării trombocitelor (MINICK 1976). În același sens acționează și schimbări ale *pattern*-ului hemodinamic local determinat de modificări în geometria vasului, stenozări, dilatări etc. (KIM și LEE 1975).

Celulele endoteliale pe cale de necroză eliberează în jurul lor substanțe cu acțiune tromboplastică și activatori ai plasminogenului. Cantitățile mari de tromboplastină favorizează conversiunea fibrinogen-fibrină, trombocitele devenind mai adezive la suprafața endotelială dacă aceasta este acoperită de un strat de fibrină polimerizată. Stabilizarea trombusului și creșterea lui ulterioară sînt condiționate de intensitatea stresului de dragare și viteza de scurgere a coloanei sanguine. S-au putut stabili valori critice ale acestora, sub care formarea masei de trombocite și fibrină poate progresa și valori peste care această masă este „spălată" și fragmentată, cu împrăștierea componentelor trombocitare și a rețelelor de fibrină în curentul circulator. Cînd numărul de trombocite este mare și degranularea se face în valuri succesive, eliberarea unei cantități mai mari de fibrinogen și de factor 3 trombocitar ce potențează coagularea, favorizează formarea unui trombus ce poate deveni ocluziv. Această dezvoltare ia un caracter rapid dacă se produce și o încetinire a vitezei coloanei sanguine, permițînd secvestrarea hematiilor în trombusul ce se formează. Eliberînd ADP, aceste hematii potențează agregarea și degranularea trombocitelor. Se poate deci susține că *pattern*-ul hemodinamic local joacă un rol important în apariția sau neapariția stabilizării trombusului format prin agregări masive trombocitare. Această stabilizare apare numai cînd stresul hemodinamic permite rețelelor de fibrină să devină predominante în raport cu trombocitele, durata și stabilitatea trombusului fiind în primul rînd legată de intensitatea stresului de dragare. La o intensitate între 50—150 dine/cm² a acestui stres se produc rupturi între macromoleculele de fibrină polimerizate și sînt desfăcute legăturile de tip electrostatic; concomitent diminuă și numărul trombocitelor agregate. La un stres de dragare ce depășește 150 dine/cm² de endoteliu, trombocitele pot deveni „nefuncționale", comportîndu-se ca în boli cu defecte de interacțiune trombocit-fibrină (GLOVER și col. 1974).

Scanned with OKEN Scanner

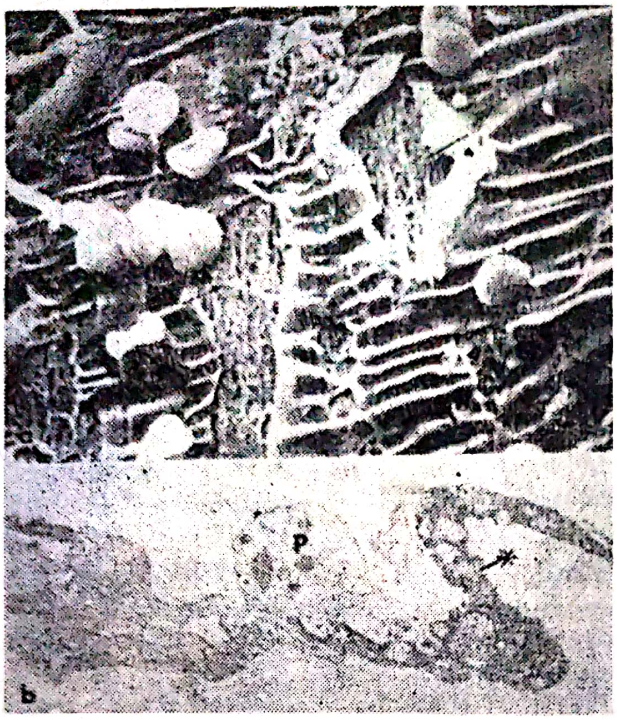


Fig. 62 Arteră carotidă de iepure, în condiţii de ischemie produsă prin pensare chirurgicală. Imaginea de sus reprezintă o fotografie obţinută la microscopia electronică în baleiaj, evidenţiind existenţa unei eroziuni endoteliale (săgeată), ×1900. Imaginea de jos, obţinută la microscopul electronic cu transmisie, include un trombocit (P) aderent de două celule endoteliale, cea marcată cu un asterisc prezentînd un grad avansat de necroză ×15700 (după NELSON, GERTZ, PENNELS, FORBES, BLAUMAINS, 1976, cu permisiunea editurii Raven Press, New York).

Pe lîngă acest tip de stres hemodinamic care acţionează antiaterogen, reducînd pericolul formării leziunilor cu caracter stenozant, există şi stresuri hemodinamice aterogene prin intermediul agregării trombocitelor. Prezenţa lor a fost dedusă din observaţii privind acumularea electivă a agregatelor de trombocite în zonele de emergenţă şi de bifurcaţii, în curburi şi stenoze şi în anumite puncte de elecţie ale şunturilor pentru circulaţia extracorporeală. Aceste agregate apar şi în absenţa alterărilor endoteliului şi pot fi cel mai frecvent produse atunci cînd scurgerea laminară a coloanei de sînge este înlocuită cu o scurgere turbulentă. Apariţia de vîrtejuri în masa coloanei de sînge în mişcare crează condiţii particulare pentru contacte între trombocite, făcînd ca aceste celule să se rotească în jurul propriului lor ax, să se deformeze şi să se lovească reciproc. Rezultă alterări ale membranei trombocitelor, cu apariţia tendinţei la agregare. Acest ultim proces este în parte condiţionat şi de eliberarea de ADP din hematiile care, ca şi trombocitele, sînt supuse în zonele cu turbulenţă la deformări şi loviri reciproce. Experimental, dacă în şunturile pentru circulaţia extracorporeală sînt introduse doar trombocite şi plasmă, nu apar agregate; dacă se adaugă şi hematii, aceste agregate se formează rapid în locurile de elecţie (BORN 1976). Este necesară o cantitate foarte mică de ADP pentru apariţia agregatelor de trombocite, 10^{-6} sau chiar mai puţin; interconectarea celulară ar rezulta din punţi de calciu formate între reziduurile de acid sialic conţinut în fibrinogenul din unele trombocite şi grupele acide din glicoproteinele altor trombocite. Se consideră că aceste grupe ar constitui receptori specifici pentru tipul de agregare menţionat (BORN 1969). Sub acţiunea substanţelor eliberate de agregatele trombocitare şi a enzimelor lizozomale rezultă alterări endoteliale de diferite grade de severitate, mergînd de la simple modificări ultrastructurale pînă la necroze celulare sau eroziuni, cu expunerea zonei subendoteliale în contact direct cu coloana de sînge în mişcare. Se produce astfel transformarea endoteliului dintr-o suprafaţă netrombogenă într-o suprafaţă trombogenă, ce induce ea însăşi agregarea trombocitelor. În *fig. 62* prezentăm o imagine la microscopul electronic în baleiaj, în care se constată agregarea trombocitelor într-o zonă cu endoteliul erodat, iar în partea de jos a imaginii aderarea unui trom-

Scanned with OKEN Scanner

bocit pe o celulă endotelială necrozată. Chiar şi după reendotelizare aceste zone rămîn mai susceptibile decît cele din jurul lor spre a fi din nou lezate de stresul de dragare şi spre a da naştere condiţiilor favorabile agregării şi degranulării trombocitelor.

În peretele arterial cu suprafaţa endotelială erodată de stresul de dragare se produc numeroase modificări consecutive agregării trombocitelor. Astfel apar alterări ale fibrelor elastice datorită elastazelor trombocitare, şi ale fibrelor de colagen datorită colagenazelor trombocitare; dacă enzimele cu caracter proteolitic acţionează intens, se pot produce şi zone de necroză. Pe de altă parte încep să prolifereze celulele musculare netede ca urmare a eliberării din trombocite a unui factor ce stimulează această proliferare. Factorul de proliferare sintetizat de trombocite a fost implicat şi în apariţia plăcilor aterosclerotice cu aspect de neoformare nodulară a celulelor musculare netede (ROSS şi col. 1974).

În *fig. 63* este sugerată corelaţia dintre alterările endoteliale induse de stresul hemodinamic şi apariţia trombozei ca urmare a aderării, agregării şi degranulării trombocitelor, declanşării cascadei coagulării şi insuficienţei mecanismelor fibrinolitice.

3. INTERRELAŢII TROMBOCITE – COLAGEN

Cu două decenii în urmă au fost publicate primele observaţii privind capacitatea colagenului de a induce agregarea trombocitelor, considerîndu-se interacţiunea trombocite-colagen ca un stadiu iniţial în apariţia trombozelor peretelui arterial (HUGUES 1960; KJAERHEIM şi HOVIG 1962; SPAET şi col. 1962). În contact cu fibrele de colagen, trombocitele prezintă aspecte de contracţie cu eliberare de ADP şi de alte substanţe implicate în procesul de agregare. Aceste observaţii au fost corelate cu frecvenţa prezenţei agregărilor trombocitare în zonele cu endoteliul erodat unde aceste celule pot veni în contact direct cu colagenul din regiunea subendotelială a intimei arterelor. De asemenea acest proces particular de interacţiune a fost implicat în producerea unor mari agregate trombocitare pe suprafeţele ulcerate ale plăcilor aterosclerotice. Se menţionează şi posibilitatea inducerii agregării trombocitelor folosind colagen purificat, repolimerizat (LEGRAND şi col. 1968), sau produşi rezultaţi din degradarea colagenului prin digestie cu colagenază (HOUCK şi CHANG 1971). Efectele agregante ale colagenului acidosolubil ar fi mai evidente decît ale celui neutro-solubil sau insolubil (KAY şi col. 1977). Colagenul din diferite ţesuturi şi organe ar avea capacităţi diferite de agregare a trombocitelor, cel mai eficient fiind materialul extras din peretele arterial şi din piele, în care predomină tipul III de colagen; cel mai slab agregant pare a fi colagenul de tipul I ce predomină în os şi dinte, precum şi în tendoane. Nu au apărut diferenţe semnificative între diferitele tipuri de lanţuri α, dar s-a constatat o intensificare a agregării dacă lanţurile se găsesc sub forma triplului helix şi nu ca formaţiuni izolate. Dintre diferitele tipuri de asamblare a macromoleculelor de colagen, efectul agregant cel mai puternic pare a fi exercitat de microfibrile, apoi, în ordine descrescîndă de fibrile şi de fibre. Reamintim că microfibrilele se găsesc acumulate în special la baza endoteliului sub forma unor aglomerări ce înlocuiesc membrana bazală. În anumite condiţii experimentale, aderarea trombocitelor la colagen a putut fi inhibată prin acetilare,

Scanned with OKEN Scanner

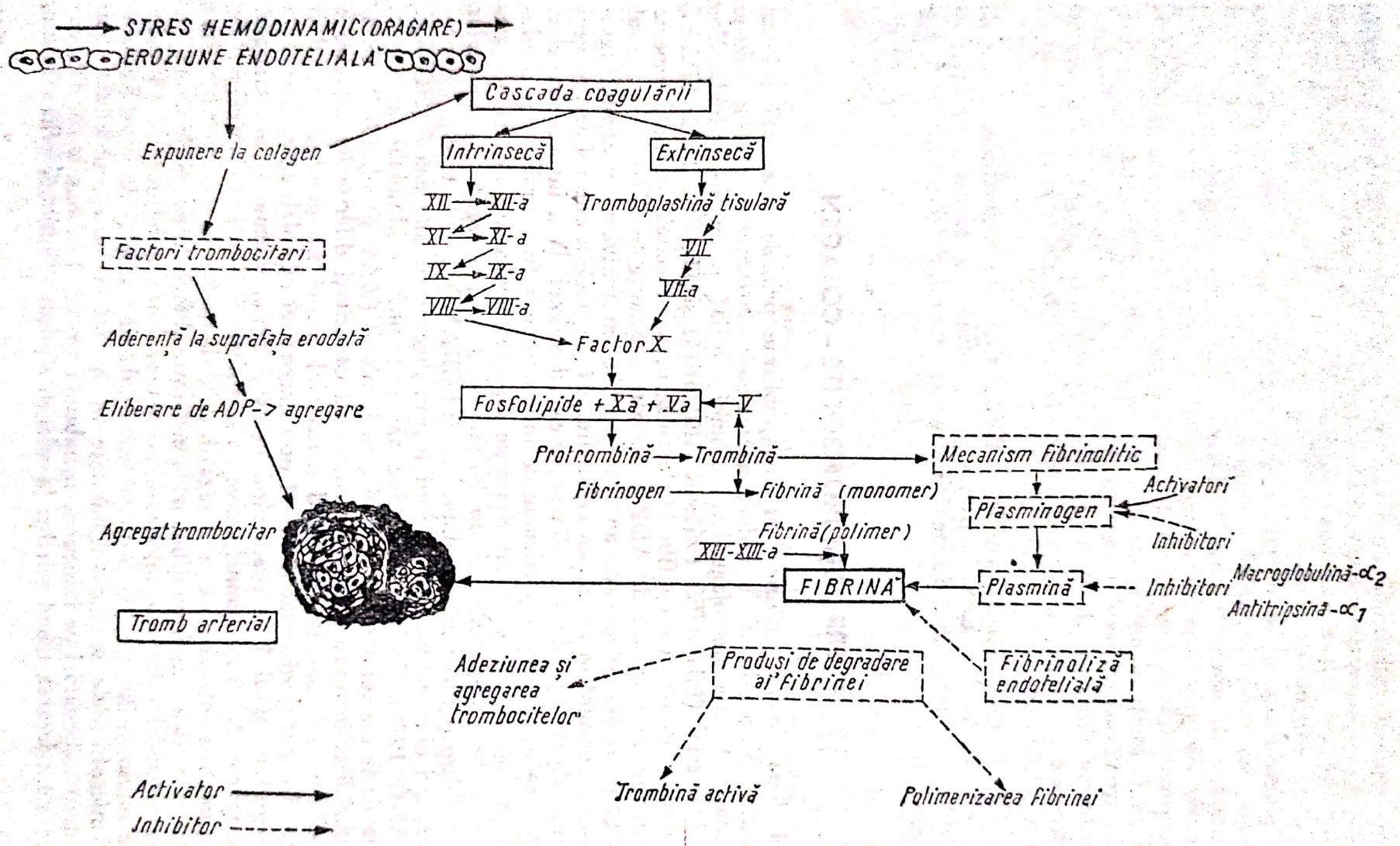


Fig. 63 Corelația dintre stresul hemodinamic de dragare, alterările endoteliale, aderarea și agregarea trombocitelor, cascada coagulării și formarea trombusului.

care a blocat grupările amino încărcate pozitiv, prezente pe suprafaţa microfibrilelor; pe de altă parte blocarea grupărilor carboxil încărcate cu sarcini electrice negative nu a influenţat interacţiunile trombocite-colagen (MUSTARD 1967). S-a mai observat scăderea capacităţii de aderare şi agregare a trombocitelor dacă este alterată dispoziţia paralelă a fibrilelor din fibra de colagen.

Prima fază a interacţiunii trombocite — colagen pare a include formarea unui complex între membrana trombocitului şi suprafaţa macromoleculelor de tropocolagen. Se consideră că ar exista, pe membrana trombocitului, cel puţin două sedii de legare a colagenului, primul adecvat triplului helix şi unei anumite secvenţe a aminoacizilor, al doilea glicoproteinelor de structură ale colagenului (JAMIESON şi col. 1975). Adeziunea trombocitelor pe suprafaţa fibrilelor de colagen prin intermediul legăturilor implicînd dizaharidul galactoză-glucoză este mai slabă decît prin intermediul legăturilor implicînd triplul helix; de asemenea şi agregarea trombocitelor este mai redusă cînd predomină legăturile cu dizaharidul galactoză-glucoză al macromoleculei de colagen.

După ce trombocitele au aderat la colagen se produce şi eliminarea materialului stocat în protoplasmă. Din primul val de contracţie sub acţiunea colagenului trombocitele secretă ADP, ATP, serotonină, factorul 4 antiheparinic etc. Dintre aceste substanţe cea mai importantă este ADP-ul care determină formarea de pseudopode, interdigitarea şi agregarea celulelor. Apare şi o activare a factorului XII, rezultînd formarea de trombină, conversiunea fibrinogen-fibrină şi primele reţele ce încep să stabilizeze trombusul trombocitar. Trombina stimulează în plus trombocitele să adere şi să agrege la trombusul deja format, contribuind astfel la creşterea sa progresivă. După activarea factorului XII de către trombocitele care vin în contact cu colagenul din zona subendotelială se produce întreaga cascadă a coagulării: factorul XII activat activează la rîndul lui factorul XI, care apoi activează factorul IX; factorul VIII este activat de către trombină şi împreună cu trombocitele şi cu factorul IX activat, activează factorul X. Se mai susţine posibilitatea ca trombocitele să iniţieze cascada coagulării fără participarea factorilor XII şi XI, creînd în zona lor de activitate un *by-pass*. Mai există şi o cale extrinsecă prin care fosfolipidele cu acţiune tromboplastică, eliberate în circulaţie în cursul interacţiunii trombocite-colagen, activează direct factorul VII care apoi tot direct activează factorul X. Fosfolipidele derivate din trombocite, împreună cu factorii X şi V activaţi, precum şi împreună cu calciul ar forma complexe responsabile de o conversiune rapidă a protrombinei (factor II) în trombină. Aceasta din urmă converteşte fibrinogenul în fibrină şi activează factorul XIII ce stabilizează reţelele de fibrină polimerizată. Unii autori consideră că prima substanţă eliberată din trombocite sub acţiunea colagenului ar fi serotonina ce ar întreţine agregarea ulterioară pînă la liza celulelor. Dacă se pun trombocitele în contact cu colagenul nepolimerizat efectul mediat de serotonină nu mai apare (KAY şi col. 1977). Atît ADP-ul cît şi serotonina ar acţiona prin mecanisme *feedback* pozitive asupra proceselor implicate în reacţiile de aderare şi agregare trombocitară (DAVIEST şi col. 1976). În *fig. 64* sînt schematizate principalele reacţii care apar din interacţiunea trombocite — colagen.

Dintre tipurile de colagen existente sub forma unor preparate comerciale menţionăm că cele solubile, de tip „Collagen Stago", stimulează receptorii specifici ai membranei trombocitelor, producînd eliberarea acidului arahidonic şi formarea de prostaglandine, reacţii blocate de aspirină. Formele fibrilare, de

Scanned with OKEN Scanner

tip „Collagen Horm", produc o liză masivă a trombocitelor agregate, cu participarea complementului, reacţii ce nu sînt inhibate de aspirină, efectul acestui tip de colagen fiind comparat cu cel al trombinei (NYMAN 1977). Un extract din intima aortei, deşi bogat în colagen a inhibat agregarea trombocitelor (HEYNS şi col. 1974). Adăugarea acestui extract la preparate conţinînd trombocite şi colagen inhibă de asemenea agregarea, iar adăugarea de ADP nu are efecte semnificative. Extractele din media aortei, ca şi cele din tendoane, nu au această capacitate de a inhiba agregarea trombocitelor în prezenţa cola-

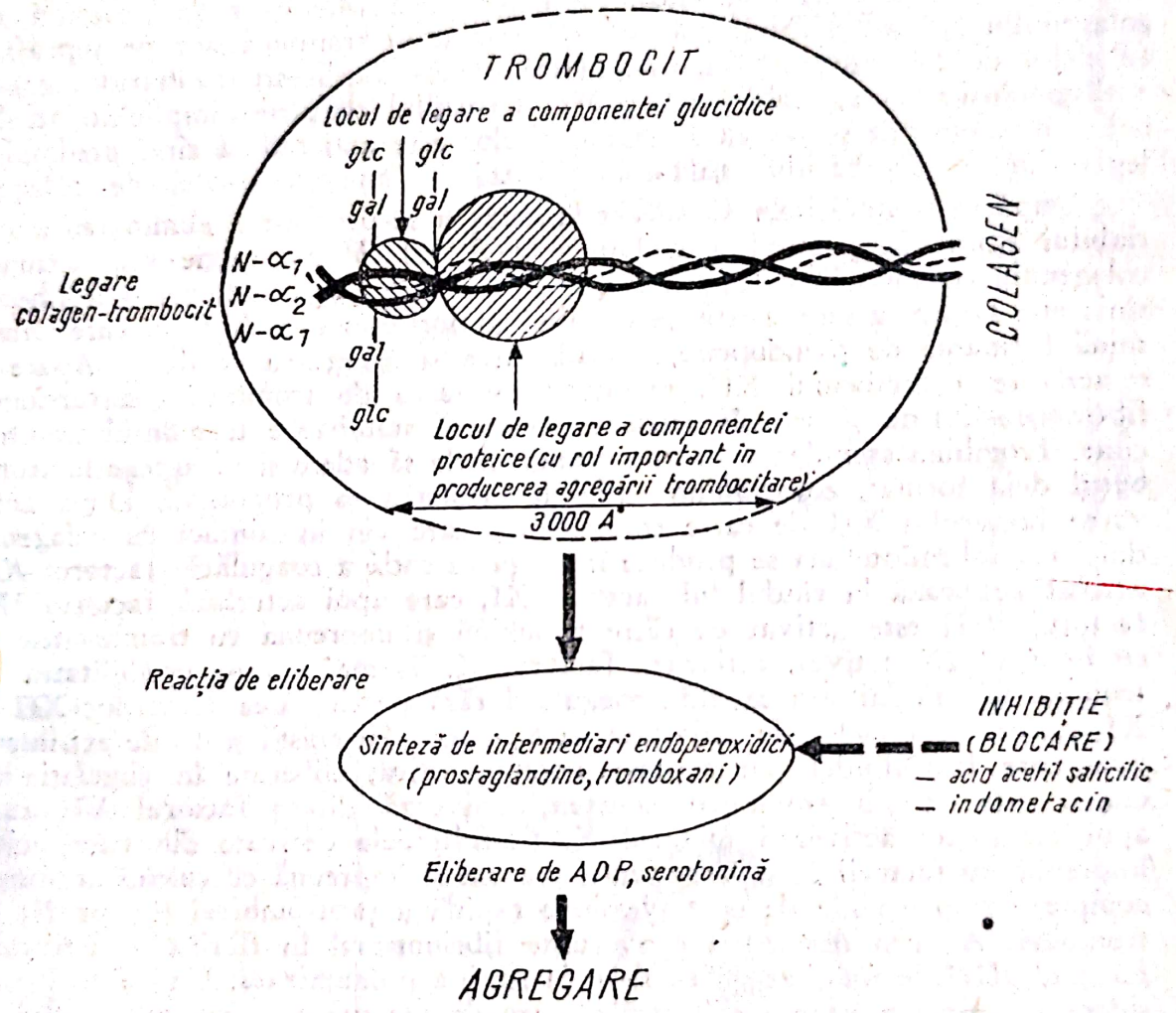


Fig. 64 **Interacţiunile dintre trombocite şi colagen (după PUETT, WASSERMAN, FORD-CUNNINGHAM, 1973, modificată).**

genului. Mecanismul inhibării nu este bine cunoscut, menţionîndu-se existenţa, în membrana celulelor musculare netede din intima aortei, a unei enzime capabilă să degradeze ADP-ul în adenozin monofosfat şi adenozin, ambele cunoscute ca inhibitori ai agregării trombocitelor (LIEBERMAN şi col. 1977). Din observaţiile menţionate ar rezulta că în condiţii fiziologice intima arterelor dispune de un mecanism apt a limita capacitatea de agregare a trombocitelor pe care o exercită colagenul, dereglarea acestui mecanism favorizînd apariţia trombozelor pe suprafaţa arterei sau intraparietal.

Scanned with OKEN Scanner

4. INTERRELAŢII TROMBOCITE-LIPIDE

Aceste interrelaţii au fost investigate în special la pacienţii cu cardiopatie ischemică şi la subiecţii consideraţi la risc (MOGA şi HĂRĂGUŞ 1963; MOOLTEN şi col. 1963; GAVRILESCU şi BARTL 1966; MOGA şi col. 1966; DAVIES şi LLOYD 1967; KOTAY-LAKATOS şi SZIGETY 1967; PĂUNESCU-PODEANU şi col. 1969; STOICA 1969; STOICHIŢĂ-PAPILIAN şi col. 1969; NICOLAESCU şi col. 1970; STOICHIŢĂ-PAPILIAN şi col. 1970; CARVALHO şi col. 1974; NORDØY 1974; FLEISCHMAN şi col. 1975; PAPILIAN şi NIŢĂ 1975; LIUSOV şi col. 1976; BELOUSOV şi col. 1977; KVARSTEIN şi col. 1977). *In vitro*, adăugarea de β-lipoproteine la plasma bogată în trombocite accelerează agregarea indusă de ADP (FABRISZEWSKI şi WOROWSKI 1968). Numeroase observaţii experimentale subliniază caracterul aterogen al dietelor bogate în acizi graşi saturaţi, pe primul plan situîndu-se acidul stearic. Asupra acestor date vom mai reveni în ultimul capitol.

Problema interrelaţiilor trombocite — lipide a căpătat noi dimensiuni odată cu adîncirea şi lărgirea cunoştiinţelor asupra *prostaglandinelor*, *tromboxanilor* şi *prostaciclinelor*.

Descoperite cu peste 40 de ani în urmă (VON EULER 1935), prostaglandinele şi derivaţii lor sînt an de an tot mai adînc şi mai complex implicate în patogenia aterosclerozei. Întrucît această implicare este bazată pe corelaţia lor cu trombocitele, vom discuta acţiunea acestor substanţe prin prizma rolului aterogen al agregatelor trombocitare. Menţionăm însă că unii dintre derivaţii acidului arahidonic, de tipul prostaciclinei PGI_2 sînt sintetizaţi în celulele endoteliale şi musculare netede din peretele arterial, independent de prezenţa sau absenţa trombocitelor.

Dacă se adaugă trombină sau colagen la o suspensie conţinînd trombocite spălate, se produce stimularea fosfolipazei A_2, prezentă în membrana trombocitului. Această enzimă desface legătura ester de la carbonul 2 al fosfatidil colinei şi fosfatidil inozitolului de care este legat acidul arahidonic, punînd în libertate respectivul acid. Menţionăm că acidul arahidonic este prezent şi în membrana celulelor endoteliale şi musculare netede din artere, unde reprezintă aproximativ jumătate din totalul acizilor graşi ai fosfatidil etanolaminei şi că eliberarea sa rezultă de multe ori ca o reacţie nespecifică la modificări ale *pattern*-ului fizico-chimic al membranei celulare.

Acidul arahidonic din membrana trombocitului sau a celulelor din peretele arterial provine din convertirea acidului linoleic adus de alimentele ingerate. Din acidul arahidonic rezultă prostaglandine cu două duble legături în lanţul lateral, în timp ce prostaglandinele cu o singură dublă legătură provin din acidul dihomo-γ-linolenic, iar cele cu trei duble legături sînt sintetizate plecîndu-se de la acidul eicosapentaenoic. Aceasta sugerează existenţa unor interrelaţii între tipul alimentaţiei şi tipul predominant al prostaglandinelor sintetizate. Un aport inadecvat de acizi graşi nesaturaţi poate schimba *pattern*-ul acizilor graşi din membrana trombocitelor şi influenţa activitatea fosfolipazei A_2 necesară sintezei prostaglandinelor. Pe de altă parte, un aport prea mare de acid linoleic sau de alte lipide nesaturate apte a se substitui acidului arahidonic în poziţia a 2-a a glicerolului din fosfolipidele membranei creează condiţiile unei competiţii a acizilor graşi nesaturaţi pentru enzimele ce sintetizează prostaglandine (MAJERUS 1976). Mai menţionăm că schimbarea *pattern*-ului

Scanned with OKEN Scanner

acizilor graşi din membrana trombocitului indusă de un anumit tip de alimentaţie, influenţează şi receptorii de membrană, care devin mai puţin sensibili la acţiunea stimulilor produşi de ADP, serotonină, catecolamine, trombină sau colagen (NORDØY 1974).

Eliberarea acidului arahidonic din molecula de fosfolipide pare un proces indispensabil sintezei prostaglandinelor, tromboxanilor şi prostaciclinelor, enzimele care catalizează această sinteză neacţionînd decît asupra acidului în stare liberă. Prima enzimă care acţionează asupra acidului arahidonic liber este o lipooxigenază, dînd naştere unui produs instabil denumit acidul 12-hidroperoxi arahidonic (HPETE), din care rezultă forma finală stabilă, acidul 12-hidroxi arahidonic (HETE). Rolul acestor substanţe în patogenia aterosclerozei nu este încă cunoscut. A doua enzimă ce acţionează asupra acidului arahidonic liber este o ciclooxigenază sau prostaglandin sintetază, producînd conversiunea acestui acid în primul endoperoxid prostaglandinic instabil, denumit PGG_2. Din acest endoperoxid instabil rezultă un al doilea endoperoxid instabil PGH_2 care, foarte rapid este convertit în prostaglandine stabile denumite PGE_2, $PGF_{2\alpha}$, PGD_2 (*fig. 65*). Durata timpului de înjumătăţire a endoperoxizilor prostaglandinici PGG_2 şi PGH_2 ce dau naştere formelor stabile este de aproximativ 5 minute la 37°C, dar numai o cantitate de *aproximativ 10% din aceşti endoperoxizi iau drumul prostaglandinelor stabile, restul de aproximativ 90% fiind convertiţi în tromboxani şi prostacicline.* Endoperoxidul PGG_2 exercită o puternică acţiune agregantă asupra trombocitelor, eliminînd materialul stocat în granule (SAMUELSON 1976). La pacienţi cu o deficienţă genetică a ciclo oxigenazelor sau prostaglandin sintetazelor, rata formării de PGG_2 din acid arahidonic este mult diminuată şi trombocitele prezintă un grad redus de agregare în comparaţie cu cele în care ciclo oxigenazele desfăşoară o activitate normală. S-a sugerat că prezenţa, în trombocite, a unei mari cantităţi de corpi denşi, cu aspect de tezaurizare, ar reflecta o deficienţă a conversiunii acidului arahidonic în endoperoxidul PGG_2. Produsul ce rezultă din PGG_2, endoperoxidul PGH_2 are, de asemenea, capacitatea de a agrega trombocitele; în schimb unele din prostaglandinele stabile produse de PGH_2, cum ar fi PGD_2 acţionează în sens contrar, inhibînd agregarea indusă de PGG_2 şi PGH_2 (NISHIZAWA şi col. 1975). Sinteza de PGD_2 este considerată ca făcînd parte dintr-un mecanism *feedback* de inhibare a agregării trombocitelor, iar durata lungă de viaţă a fost corelată cu persistenţa acestei substanţe în zonele unde se produc agregări trombocitare. În concentraţii între 5—10 ng/ml prostaglandina PGD_2 blochează efectele agregante exercitate asupra trombocitelor de colagen, serotonină, catecolamine, trombină etc., menţinînd integritatea structurală a celulelor şi împiedicînd astfel autoîntreţinerea procesului de agregare (OELZ şi col. 1977).

După cum am mai menţionat, numai aproximativ 10% din endoperoxizii prostaglandinici PGG_2 şi PGH_2 sînt transformaţi în prostaglandine stabile, restul de aproximativ 90% fiind convertit de tromboxan sintetaze în tromboxani şi de prostaciclin sintetaze în prostacicline.

Primul produs apărut sub acţiunea tromboxan sintetazei este *tromboxanul A_2*, cu timp de înjumătăţire de numai 30 de secunde. Are cea mai puternică acţiune agregantă asupra trombocitelor dintre toate substanţele cunoscute pînă acum, fiind în acelaşi timp şi un puternic vaso-constrictor. Ambele acţiuni îl recomandă ca un important agent aterogen, cu implicaţii multiple în patogenia bolii. Drept urmare se fac eforturi spre a se bloca

Scanned with OKEN Scanner

sinteza sa, obţinîndu-se anumite rezultate în inhibarea tromboxan sintetazei cu bezidamină şi imidazol (MONCADA şi VANE 1978). La pacienţii care se nasc cu o deficienţă a tromboxan sintetazei apar, în timp, tulburări ale procesului de coagulare datorită neagregării trombocitelor în zonele unde este necesară hemostaza (WEISS şi LAGES 1977). Blocarea formării trombusului se poate produce şi sub acţiunea unor substanţe ce inhibă ciclo oxigenazele, exemplul cel mai bine cunoscut fiind aspirina. Efectele produse pot fi uneori similare cu cele rezultate din deficitul genetic al tromboxan sintetazelor, respectiv apariţia unor sîngerări trecătoare sau formarea inadecvată de trombus trombocitar în zonele de hemostază. După aproximativ 30 de secunde de la sinteză, tromboxanul A2 trece în mod spontan în forma stabilă B_2 ce nu este implicată în patogenia aterosclerozei.

În afară de tromboxani, un alt derivat al acidului arahidonic este *prostaciclina* (PGI_2), produsă nu numai de trombocite, ci şi de celulele endoteliale şi musculare netede din artere. Prezenţa prostaciclinelor a fost evidenţiată în toate vasele obţinute prin intervenţii chirurgicale, cantitatea lor în artere fiind de aproximativ opt ori mai mare decît în vene. La animalele rezistente la ateroscleroza spontană şi experimentală, arterele conţin cantităţi mai mari de prostaciclină în comparaţie cu vasele animalelor susceptibile la ateroscleroză (VILLA şi col. 1977). În contrast cu tromboxanul A_2, prostaciclina PGI_2 inhibă agregarea trombocitelor şi dilată musculatura vaselor. Efectul inhibant asupra agregării trombocitare apare la concentraţii de 1 ng/ml, indiferent de natura agentului care induce agregarea. Tot spre deosebire de tromboxanul A_2, prostaciclina PGI_2 are un timp de înjumătăţire mai lung, de 2—3 minute, putînd astfel acţiona pe perioade de timp de 4—5 ori mai mari decît tromboxanul. Aceasta înseamnă că la concentraţii egale de 1 ng/ml, în timp ce influenţa puternic agregantă asupra trombocitelor şi vazoconstrictoare asupra coronarelor, exercitată de tromboxanul A_2 dispare în aproximativ 30 de secunde, efectul antiagregant şi vazodilatator al prostaciclinei PGI_2 continuă să se exercite pentru încă 90—150 de secunde. După trecerea a 2—3 minute prostaciclina suferă o transformare spontană într-un produs cu implicaţii aparent minore în patogenia aterosclerozei, prostaciclina 6 keto (sau oxo) $PGF_{1\alpha}$. Spre deosebire de tromboxani, care acţionează asupra peretelui arterial numai după ce au fost sintetizaţi şi eliberaţi din trombocite, prostaciclinele sînt elaborate nu numai de trombocite, ci şi de celulele endoteliale şi musculare netede ale peretelui arterial. Sinteza în peretele arterial ar avea loc fie plecîndu-se de la acidul arahidonic prezent în fosfolipidele membranelor celulelor endoteliale şi musculare netede, fie plecîndu-se de la endoperoxizii prostaglandinici de tipul PGG_2 şi PGH_2 sintetizaţi de trombocite şi difuzaţi în vecinătatea endoteliului (MONCADA şi VANE 1978). În special sub acţiunea unor stresuri de dragare intensificate şi a stresurilor din zonele de turbulenţe, trombocitele se lovesc reciproc şi liberează endoperoxizii PGG_2 şi PGH_2 pe care celula endoteliului arterei îi captează şi îi converteşte în prostacicline de tipul PGI_2. Cu cît aceste prostacicline sînt prezente în cantităţi mai mari în celulele endoteliale, cu atît posibilitatea de agregare a trombocitelor în zona respectivelor celule este mai redusă. Mecanismele prin care prostaciclina PGI_2 inhibă agregarea trombocitelor nu sînt încă bine cunoscute; se sugerează o acţiune similară celei exercitate de prostaglandinele PGE_1 şi PGD_2, respectiv o mărire a valorilor AMP-ului ciclic. Tromboxanul A_2 acţionează în sens invers, reducînd aceste valori, rata de agregare trombocitară părînd a fi

Scanned with OKEN Scanner

dependentă raportului dintre efectele antiagregante, exercitate de prostacicline și agregante, exercitate de tromboxani. Acest raport are valorile cele mai ridicate la nivelul endoteliului, scăzînd progresiv către adventice, sinteza de prostacicline în zona endotelio-subendotelială fiind de aproximativ 10 ori mai mare comparativ cu zona adventiceală (HERMAN și col. 1977). S-a sugerat existența unui mecanism *feedback* prin intermediul căruia rata sintezei prostaciclinelor în peretele arterial ar regla raporturile dintre trombocite și endotelii (MONCADA și VANE 1978). Această sinteză pare a fi inhibată de peroxizii lipidici care reduc activitatea prostaciclin sintetazelor. Peroxizii lipidici sînt frecvent prezenți în plăcile aterosclerotice unde, inhibînd sinteza de prostacicline și lăsînd nemodificată sinteza tromboxanilor, favorizează agregarea trombocitelor și implicit formarea de tromboze în placă sau pe suprafața ei. Inhibarea sintezei prostaciclinelor a mai fost evidențiată și la iepurii supuși la diete bogate în colesterol, hipercolesterolemia producînd în același timp și o potențare a sintezei tromboxanilor (GRYGLEWSKI și col. 1978). În sfîrșit mai menționăm inhibarea sintezei prostaciclinelor sub acțiunea nicotinei, mai ales a valorilor de 30—40 ng/ml prezente în sîngele fumătorilor inveterați (ARMITAGE și col. 1974; WENNMALM 1978). Cu aceste doze se pot produce blocări totale ale elaborării prostaciclinelor de către celulele peretelui arterial, fie în culturi de țesuturi, fie în experimente *in vivo*. Prin inhibarea sintezei prostaciclinelor sub acțiunea peroxizilor lipidici, hipercolesterolemiei sau a nicotinei, se obține nu numai o creștere considerabilă a capacității de agregare a trombocitelor, ci și dispariția efectelor vazodilatatoare și de relaxare a musculaturii netede arteriale exercitate de prostaciclina PGI_2. Această substanță acționează și ca un dilatator al arterelor coronare (KULKARNI și col. 1976; DUSTING și col. 1977) avînd și o puternică acțiune hipotensoare. La cîine, efectele hipotensoare apar la doze de 50—1000 nm/kg; dacă aceste doze sînt injectate direct în patul coronarian, concomitent cu hipotensiunea în circulația sistemică se produce și o vazodilatație în circulația coronariană (ARMSTRONG și col. 1977). Prostaciclina PGI_2 determină o scădere a tensiunii arteriale de 4—8 ori mai mare decît prostaglandina PGE_2 și de aproximativ 100 de ori mai mare decît produsul stabil al prostaciclinei, 6-keto $PGF_{1\alpha}$ (ARMSTRONG și col. 1978). Datele prezentate nu reflectă decît cunoștințe acumulate pînă la sfîrșitul anului 1978, studiul prostaglandinelor, tromboxanilor și prostaciclinelor, corelat cu patogenia aterosclerozei, rămînînd în continuare unul dintre cele mai dinamice subiecte de cercetare. Aceasta impune o revizuire continuă a cunoștiințelor și a numeroaselor ipoteze formulate cu ani în urmă, cînd existența prostaciclinelor era încă ignorată.

În afara sintezei prostaglandinelor, tromboxanilor și prostaciclinelor, trombocitele mai intervin în metabolismul lipidic și prin activitatea lipoprotein lipazei „ancorată" pe membrana acestor celule (VIK-MO 1975). Această enzimă hidrolizează trigliceridele în acizi grași și glicerol, acționînd asupra chilomicronilor și preβ-lipoproteinelor. În zonele cu mari concentrări trombocitare, chilomicronii pot fi degradați pînă la nivelul unor „resturi" bogate în colesterol liber și esterificat ce pot fi incluse în masa trombusului în curs de formare. Pe de altă parte, trombocitele nu posedă mecanisme enzimatice implicate în metabolismul colesterolului, hipercolesterolemiile asociindu-se cu scăderea timpului de înjumătățire a trombocitelor și cu creșterea capacității lor de agregare. Diminuarea hipercolesterolemiei prin dietă și medicație hipolipe-

miantă poate fi urmată de normalizarea modificărilor menţionate (STEELE şi col. 1975; MUSTARD 1977).

5. ÎNCERCĂRI DE TERAPEUTICĂ PATOGENICĂ

Numeroşi autori au evidenţiat scurtarea timpului de supravieţuire a trombocitelor la pacienţii cu cardiopatie ischemică, atribuind acestui test şi o valoare prognostică. Această scurtare nu are însă un caracter specific, fiind detectată în fazele acute ale infarctelor de miocard şi cerebrale, ale trombozelor venoase, precum şi în stări febrile, coagulopatia de consum, cancer, homocistinurie, hipertensiune arterială şi la pacienţii cu proteze intravasculare (GENTON şi STEELE 1977). Timpul de supravieţuire a trombocitelor poate fi scurtat şi prin simpla tratare a celulelor cu sialidază sau cu virusul influenzei cu acţiune neuraminidazică (SCOTT şi col. 1976). Din punct de vedere al etiopatogeniei aterosclerozei ar fi important de evidenţiat acele scurtări ale duratei de supravieţuire a trombocitelor care apar ca o consecinţă a erodărilor endoteliale, sugerîndu-se existenţa unui raport între mărimea suprafeţei erodate şi diminuarea timpului de supravieţuire a trombocitelor circulante. La pacienţii cu cardiopatie ischemică, acelaşi test mai poate reflecta, în afara existenţei suprafeţelor endoteliale erodate, ruperea unor plăci de aterom, eliberări masive de catecolamine sau/şi prezenţa unor zone de turbulenţe în anumite paturi vasculare.

Constatările menţionate au sugerat folosirea unor medicamente care să readucă la normal timpul de supravieţuire al trombocitelor, precum şi capacitatea lor crescută de aderare şi agregare. Aceste medicamente se administrează asociat sau în succesiune cu tratamentul anticoagulant.

Considerînd etapa cea mai importantă pentru formarea unui trombus stabil eliminarea din trombocite a materialului stocat, se încearcă a se bloca această eliminare interceptîndu-se fazele de recepţie, transmisie şi eliberare. Toate substanţele ce acţionează asupra membranei trombocitului pot intercepta receptorii specifici şi influenţa modul de înregistrare a stimulului. În acest sens acţionează adenozina şi derivatul său 2-cloro, precum şi ATP-ul şi AMP-ul, toţi inhibînd agregarea indusă de ADP. Agenţii α-blocanţi inhibă agregarea produsă de adrenalină, probabil tot prin blocarea receptorilor specifici din membrana trombocitului. Heparina, în concentraţii reduse, anulează efectul stimulului necesar apariţiei agregării produsă de trombină, iar antagoniştii serotoninei de tipul metilsergidului şi ciproheptadinei inhibă agregarea indusă de serotonină, efectul fiind de o mare specificitate (SCRIABINE 1977).

Faza a doua, transmisia, este blocată de toate substanţele care măresc valorile AMP-ului ciclic din protoplasma trombocitelor ca urmare a stimulării adenil ciclazei sau a inhibării fosfodiesterazei. Reamintim că ar exista o corelaţie inversă între nivelul AMP-ului ciclic şi capacitatea de agregare a trombocitelor, această capacitate fiind cu atît mai mare cu cît valorile AMP-ciclic sînt mai coborîte. Nivelul AMP-ului ciclic din trombocite este dependent de activitatea a cel puţin două enzime: adenil ciclaza care produce conversiunea ATP-ului în AMP şi fosfodiesteraza care catalizează conversiunea AMP-ului ciclic în 5-AMP. Rezultă posibilitatea inhibării agregării trombocitelor de către toate substanţele apte a stimula activitatea adenil ciclazei şi a diminua activitatea fosfodiesterazei; din primul grup face parte prosta-

Scanned with OKEN Scanner

ciclina PGI_2, prostaglandina PGE_1 şi adenozina, din al doilea grup tromboxanul A_2, teofilina, papaverina şi dipiridamolul. Mai reamintim că şi creşterea nivelului guanozin monofosfatului ciclic (GMP) a fost corelată cu mărirea capacităţii de agregare a trombocitelor, corelaţia avînd un caracter pozitiv. În consecinţă, substanţele care intercepteaza creşterea GMP-ului indusă de ADP, noradrenalină, serotonină şi ionii de calciu pot acţiona ca inhibitori ai agregării. S-a menţionat că transmisia, spre deosebire de recepţia stimulului, necesită consum de energie furnizată atît de şuntul pentozic cît şi de fosforilarea oxidativă. Se poate deci susţine că toate medicamentele care blochează anumite etape esenţiale în producerea de energie vor bloca şi transmisia stimulului de la receptorii din membrana trombocitului spre aparatul contractil al celulei.

În sfîrşit faza finală, de expulzie, caracterizată prin eliminarea substanţelor stocate în granule, vacuole, corpi denşi, precum şi în variate organite este blocată de agenţi antiinflamatori nesteroidali de tipul aspirinei şi indometacinei, ca şi de substanţe cu acţiune antihistaminică, sau antidepresantă ciclică (clorpromazina, prometazina, imipramina etc.). S-au mai obţinut rezultate încurajatoare cu clofibrat, piridinolcarbamat, penicilină. În plus, s-a evidenţiat caracterul complex al acţiunii anumitor substanţe depresante ce influenţează şi activitatea fibrinolitică (CUPARENCU şi col. 1978).

a. ASPIRINA

Dintre medicamentele menţionate ne vom opri în primul rînd asupra *aspirinei*, cea mai accesibilă şi în acelaşi timp mai bine cunoscută sub aspectul efectelor adverse. Interesul pentru folosirea aspirinei ca tratament patogenic al aterosclerozei a crescut considerabil odată cu evidenţierea capacităţii de prevenire a infarctului de miocard (BOSTON COLLABORATIVE DRUG SURVEILLANCE GROUP 1974). Nu toate studiile au ajuns la aceste concluzii optimiste, unele publicînd rezultate negative, altele scăderi nesemnificative ale incidenţei infarctului de miocard după tratamentul cu aspirină. Se subliniază grija cu care trebuie administrată pentru evitarea sîngerărilor în tubul digestiv, ceea ce limitează durata tratamentului şi cantitatea administrată zilnic, aceste două incoveniente majore fiind puse la baza unor rezultate negative. Sînt speranţe ca prin folosirea benorilatului, un nou ester lipidosolubil al aspirinei şi a p-aminofenolului să se evite complicaţiile digestive, putîndu-se efectua tratamente de lungă durată şi cu doze zilnice adecvate (KANG şi col. 1974).

Administrarea aspirinei la om nu modifică valorile hematocritului, hemoglobinei, numărului de eritrocite şi de leucocite sau formula leucocitară şi nici numărul trombocitelor. Acestea din urmă prezintă însă o reducere a diametrelor cu valoare semnificativă din punct de vedere statistic, de la 2,5 la 2,3 microni (FAJARDO 1975). Diminuă, de asemenea, numărul de trombocite cu diametre peste 2,5 microni. Pe de altă parte nu s-au constatat modificări de formă, structură şi organizare la nivel celular, nici nu au crescut sau scăzut numărul şi densitatea incluziilor. Mai menţionăm că aspirina nu readuce la normal timpul diminuat de supravieţuire a trombocitelor existent la unii pacienţi cu cardiopatie ischemică. Întrucît nu s-au evidenţiat modificări ultrastructurale s-a ajuns la concluzia unei acţiuni a medicamentului demonstrabilă numai cînd trombocitele sînt puse în situaţia de a agrega. În sprijinul acestei

Scanned with OKEN Scanner

concluzii pledează rezultatele a numeroase experimente în care s-a demonstrat agregarea mult mai slabă pe suprafeţe endoteliale erodate a trombocitelor tratate în prealabil cu aspirină, precum şi intensitatea mult diminuată a procesului de eliminare a granulelor (TS'AO 1970).

În esenţă, sub acţiunea aspirinei, trombocitele aderă pe suprafaţa endotelială erodată dar nu mai au capacitatea de a se contracta, pierzînd implicit şi capacitatea de expulzare a materialului secretat şi stocat. Dacă se adaugă ADP exogen, adrenalină, serotonină sau trombină, degranularea şi agregarea încep să se producă şi în prezenţa aspirinei, cu condiţia ca substanţele să fie în concentraţii mult mai mari decît cele fiziologice, în cazul serotoninei de exemplu, într-o concentraţie de 5 ori mai mare. Pe baza acestor rezultate s-a susţinut că aspirina blochează numai primul val de contracţie, indus de ADP, catecolamine, histamină etc. caracterizat prin eliminarea granulelor dense şi avînd ca mecanism intermediar formarea prostaglandinelor prin conversiunea acidului arahidonic liber. Cel de al doilea val de concentraţie, din care rezultă eliminarea granulelor α, bogate în enzime lizozomale, indus în special de trombină, nu pare a necesita sinteza prealabilă a prostaglandinelor şi este deci insensibil la acţiunea aspirinei. Tot ca un mecanism independent de sinteza prostaglandinelor a apărut în anumite lucrări şi eliberarea serotoninei din trombocite. Date mai recente implică însă endoperoxizii prostaglandinici în ambele valuri de eliberare a granulelor stocate în trombocite, acceptînd totuşi şi existenţa unor mecanisme de eliberare independente de conversiunea acidului arahidonic (HUZOOR-AKBAR şi ARDLIE 1978).

Acţiunea antiaterogenă a aspirinei s-ar exercita prin blocarea transformării acidului arahidonic eliberat din fosfolipidele din membrană în endoperoxizi prostaglandinici de tipul PGG_2 şi PGH_2. Această blocare se efectuează prin inhibarea ciclo-oxigenazelor şi are ca rezultat împiedicarea sintezei de endoperoxizi prostaglandinici instabili de tip PGG_2 şi PGH_2, a unor prostaglandine stabile de tip PGE_2, PGD_2 şi $PGF_{2\alpha}$ a tromboxanului A_2 şi prostaciclinei PGI_2. Teoretic este inhibată apariţia atît a unor substanţe care potenţează agregarea trombocitelor, cît şi a celor care împiedică agregarea. În condiţii experimentale, dozele mici de aspirină pot bloca formarea de tromboxani şi permite sinteza prostaciclinelor, pe cînd dozele mari diminuă elaborarea ambelor tipuri de substanţe (AMEZCUA şi col. 1978).

Locul de acţiune al aspirinei este ciclo-oxigenaza care converteşte acidul arahidonic în PGG_2 (*fig. 65*). Ciclo-oxigenaza din trombocite este mai sensibilă la acţiunea aspirinei decît cea din celulele peretelui arterial. Întrucît trombocitele produc atît tromboxani cît şi prostacicline, iar celulele peretelui arterial în special prostacicline, efectele administrării aspirinei se vor traduce prin diminuarea capacităţii de agregare a trombocitelor, vasodilataţie şi hipotensiune arterială. Această sinteză electivă a prostaciclinelor cu blocarea producerii tromboxanilor poate fi obţinută prin folosirea unor doze mici de aspirină, în timp ce dozele mari pot bloca şi elaborarea prostaciclinelor. S-a sugerat în acest sens doza de 0,4—0,6 g pe zi, administrată sub forma unei prize unice. Se mai recomandă 325 mg/zi doar pentru a se obţine acţiune antitrombotică (HIRSCH 1977), sau 750 mg/zi în patru reprize spre a se obţine tot numai blocarea sintezei tromboxanilor (GERRARD şi col. 1977).

Ciclo-oxigenazele ce sînt inhibate de aspirină au cel puţin trei zone active pe suprafaţa lor, dintre care cea mai importantă pare a fi specifică pentru acidul arahidonic. Sub acţiunea aspirinei, zona activă pentru acidul arahidonic

Scanned with OKEN Scanner

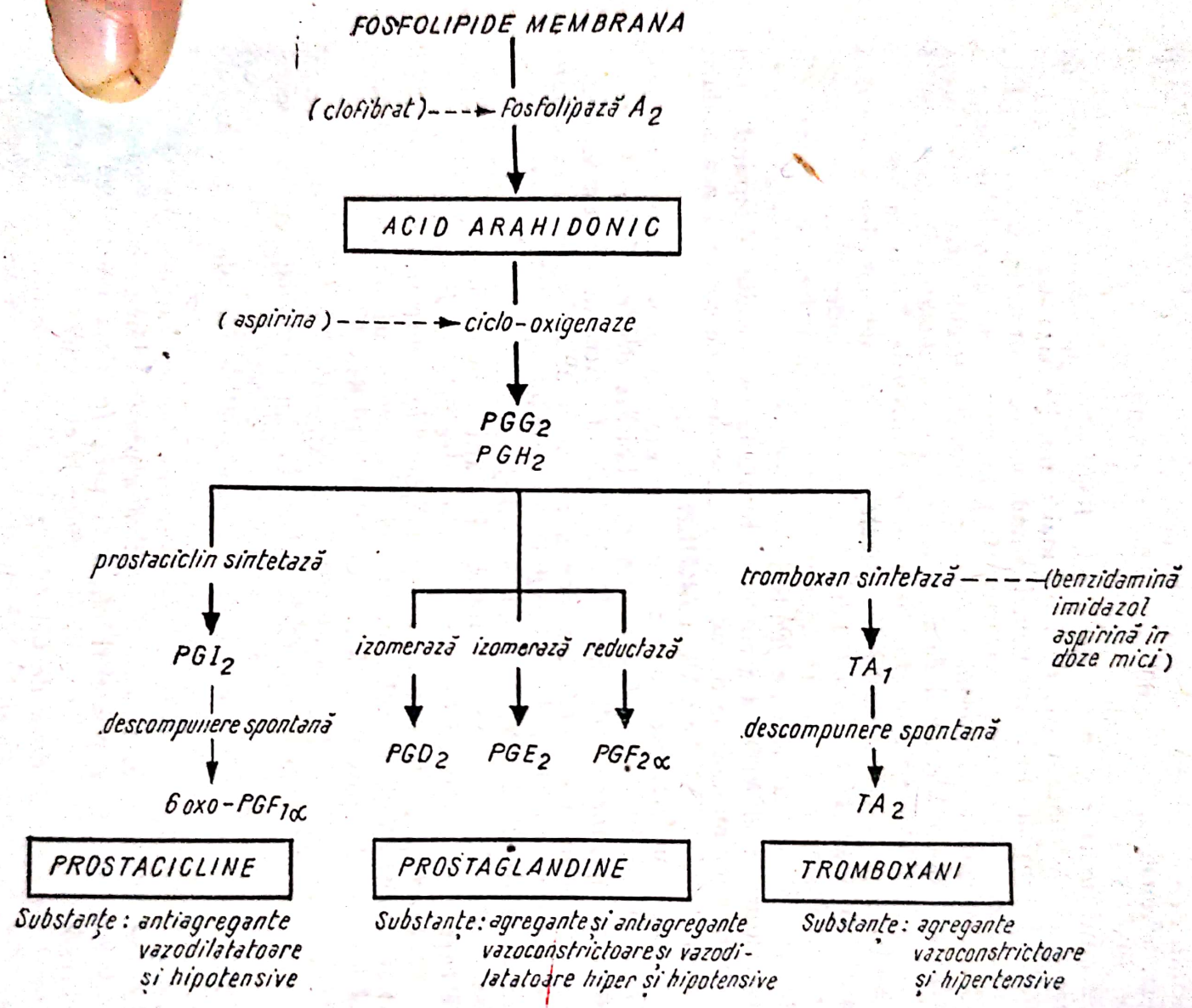


Fig. 65 **Prezentare schematică a formării prostaglandinelor, prostaciclinelor și tromboxanilor, plecîndu-se de la acidul arahidonic eliberat din fosfolipidele membranei trombocitului. Săgeţile indică locul unde se produce blocada exercitată de medicamente cu acţiune antiagregantă.**

Scanned with OKEN Scanner

a ciclo-oxigenazelor este blocată, probabil consecutiv unei acetilări (*fig. 66*). Acetilarea persistă pe toată durata supraviețuirii enzimei, efectele inhibante ale unei singure doze de aspirină asupra conversiunii acidului arahidonic în endoperoxizi ciclici persistînd timp de 7—10 zile (MAJERUS 1976).

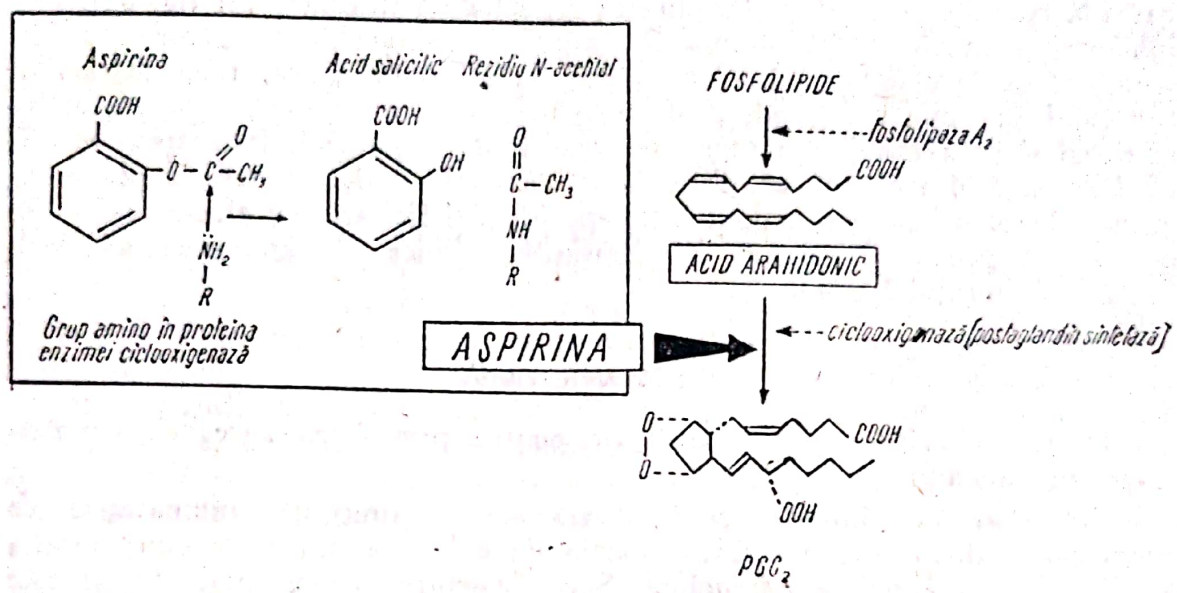


Fig. 66 **Mecanismul acetilării implicat în inhibarea ciclo-oxigenazelor de către aspirină.**

S-a mai atribuit aspirinei și acțiunea de a deregla metabolismul energetic al trombocitului, mai ales prin inhibarea conversiunii ATP-ului în ADP (SMITH J. B. și col. 1973) și de a diminua activitatea glucozil-transferazelor prezente pe membrana trombocitului limitînd astfel capacitatea acestor celule de a adera la colagen. S-ar explica astfel de ce, la pacienții tratați cu aspirină, trombocitele aderă mai greu la suprafețele endoteliale erodate, deși în zona subendotelială sînt prezente fibrile de colagen cu care pot veni în contact direct (WEISS și col. 1975). Prezența aspirinei în sîngele circulant ar împiedica astfel și aderarea trombocitelor la fibrele groase de colagen ce proemină în lumen în plăcile aterosclerotice ulcerate.

Prin intermediul blocării sintezei prostaglandinelor, tromboxanilor și prostaciclinelor, aspirina influențează și motricitatea vasculară, limitînd efectele constrictive ale substanțelor cu acțiune presoare (McGIFF și col. 1976). Sînt inhibate în special acele prostaglandine care potențează acțiunea hipertensivă a catecolaminelor, angiotensinei și vasopresinei (ALTURA și ALTURA 1976). Pe de altă parte, anumite doze de aspirină care blochează doar sinteza tromboxanilor, produc efecte hipotensoare și vasodilatatoare modificînd raportul prostacicline/tromboxani în favoarea primelor substanțe. Ar mai fi de menționat că prin blocarea sintezei tromboxanului A_2 se reduce considerabil transportul calciului în trombocite din depozitele naturale spre miofibrile, rezultînd contracții inadecvate și o eliminare defectuoasă a materialului stocat în granule (GERRARD și col. 1977).

Dacă aspirina este administrată în doze de 3 g/zi, ca în tratamentul bolii reumatismale, apare pericolul unei hipoprotrombinemii, anunțat de creșterea valorilor factorilor II, VII, IX și X, creșteri ce pot fi inhibate prin administrare de vitamină K. Aceste doze mari de aspirină produc, la nivelul

Scanned with OKEN Scanner

trombocitului, pe lîngă blocarea sintezei prostaglandinelor, tromboxanilor şi prostaciclinelor, o eliminare defectuoasă a factorilor trombocitari PF 3 şi PF 4. În anumite lucrări se menţionează că inhibarea eliminării acestor factori poate fi evidenţiată începînd cu doza de 500 mg de aspirină/zi (LOEW 1977). Factorul 3 este cunoscut prin acţiunea sa procoagulantă, integrată în cascada reacţiilor care duc la formarea reţelelor de fibrină (vezi fig. 63). Prin inhibarea eliminării sale, indusă de aspirină, conversiunea protrombină → trombină se face defectuos şi trombusul nu se consolidează, efect extrem de favorabil din punct de vedere al prevenirii manifestărilor clinice ale aterosclerozei şi nefavorabil din punct de vedere al hemostazei. Inhibarea secretării factorului 4 trombocitar, duce la o conversiune defectuoasă a plasminogenului în plasmină şi o acţiune antiheparinică deficitară, cu efecte mai puţin importante pentru prevenirea manifestărilor clinice ale aterosclerozei decît în cazul factorului 3 trombocitar.

b. SUBSTANŢE VARIA

Dintre celelalte substanţe utilizate pentru prevenirea agregării trombocitelor menţionăm:

Sulfinpirazona, înrudită cu fenilbutazona, cu timp de înjumătăţire de aproximativ două ore, blochează reacţia de eliberare din trombocite indusă în special de colagen şi adrenalină. Spre deosebire de aspirină, efectul este reversibil, dispărînd dacă trombocitele au fost spălate. Acest efect se menţine deci atîta timp cît medicamentul este prezent în circulaţie şi el este reflectat de diminuarea, cu aproximativ 50%, a substanţelor eliminate din trombocite comparativ cu celulele nesupuse acţiunii sulfinpirazonei (McDONALD şi col. 1976). Sînt importante de menţionat deosebirile dintre sulfinpirazonă şi aspirină: ambele medicamente inhibă agregarea trombocitelor produsă de colagen *in vivo*, pe cînd *in vitro* nu este activă decît aspirina; pe de altă parte, timpul redus de supravieţuire a trombocitelor existent la pacienţi cu cardiopatie ischemică este normalizat de sulfinpirazonă şi rămîne nemodificat după tratamentul cu aspirină. Sufinpirazona, în doze de 600—800 mg/zi a fost utilizată în scopul prevenirii trombozelor la pacienţi cu cardiopatie ischemică, cu proteze de valvule cardiace şi cu valvulopatii reumatice. S-a mai menţionat efectul bun al tratamentului cu sulfinpirazonă asupra ischemiilor cerebrale tranzitorii, considerate a fi induse de agregări trombocitare ce obstrucţează lumenul vaselor mai mici. În sfîrşit sulfinpirazona şi-a mai dovedit utilitatea la pacienţii cu şunturi arterio-venoase ce urmează a fi supuşi unei hemodialize cronice şi la cei cu *by pass* aorto-coronarian, la aceştia din urmă fiind prevenite şi emboliile trombocitare responsabile de accidente cerebrale sau/şi renale. Experimental, după erodarea endoteliului cu un cateter cu balon formarea plăcilor aterosclerotice s-a redus cu aproximativ 40% la animalele sub tratament cu sulfinpirazonă în comparaţie cu martorii netrataţi (BAUMGARTNER 1974).

Hidroxiclorochina exercită acţiuni antiinflamatoare, antireumatice şi antimalarice, reducînd în special agregarea trombocitelor indusă de ADP. În doze de 800 mg/zi este frecvent folosită mai ales pentru prevenirea trombozelor venoase şi a emboliilor pulmonare. Efectul maxim apare la aproximativ o oră de la administrarea medicamentului şi persistă aproximativ 72 de ore

Scanned with OKEN Scanner

după o singură priză orală. În tratamentele de durată mai lungă se menționează efecte toxice asupra retinei.

Dipiridamolul (Persantinul) inhibă agregarea trombocitelor indusă de ADP, adrenalină și colagen, dar în doze mici poate avea un efect contrar. Principala sa acțiune ar fi blocarea captării adenozinului de către trombocite, rezultînd creșterea concentrației acestei substanțe în plasmă, unde inhibă agregarea trombocitelor. Se mai menționează și blocarea captării serotoninei de către trombocite, precum și inhibarea activității fosfodiesterazei. Sînt folosiți astăzi numeroși derivați, unii considerați mai activi decît substanța de bază, dar majoritatea acestor investigații nu au depășit stadiul experimental de laborator.

Ciproheptadienul acționează ca agent antiserotoninic și antihistaminic, dar inhibă agregarea trombocitelor indusă nu numai de serotonină, ci și de trombină, ADP, colagen, complexe antigen-anticorp. Pentru blocarea agregării indusă de serotonină sînt necesare doze mult mai mici decît pentru alți agenți agreganți. În plus, el mai are și un efect de potențare a inhibării sintezei prostaglandinelor, tromboxanilor și prostaciclinelor produsă de aspirină, sulfinpirazonă, dipiridamol etc! Modul de acțiune este puțin cunoscut, se sugerează, printre altele, cuplarea medicamentului de membrana trombocitului, căreia îi modifică gradul de vîscozitate. Această modificare ar putea influența eliberarea acidului arahidonic din fosfolipide, precum și capacitatea celulei de a emite pseudopode din interdigitarea cărora rezultă procesul de agregare.

Clofibratul, pe care l-am prezentat pe larg ca agent hipolipemiant, reduce și adezivitatea trombocitelor și readuce la normal timpul scurtat de supraviețuire a acestor celule, existent la pacienții cu cardiopatie ischemică. Spre deosebire de aspirină, clofibratul nu blochează conversiunea acidului arahidonic în prostaglandine, tromboxani și prostacicline, ci modifică legătura dintre acest acid și fosfolipide, făcînd mai puțin evidente efectele fosfolipazei A_2 care eliberează acidul arahidonic spre a fi convertit de ciclo-oxigenaze (HUZOOR AKBAR și ARDLIE 1978). Dozele de clofibrat folosite în scopul prevenirii apariției trombozelor sînt de 1,5—2 g/zi.

Scanned with OKEN Scanner

V. MECANISME PATOGENICE IMPLICATE ÎN HISTOGENEZA PLĂCILOR ATEROSCLEROTICE

A. DATE INTRODUCTIVE

După cum s-a mai menţionat în repetate rînduri în capitolele anterioare, *plăcile reprezintă leziunea caracteristică a aterosclerozei şi principala cauză a apariţiei manifestărilor clinice ale bolii. Ele se dezvoltă atît în absenţa, cît şi*

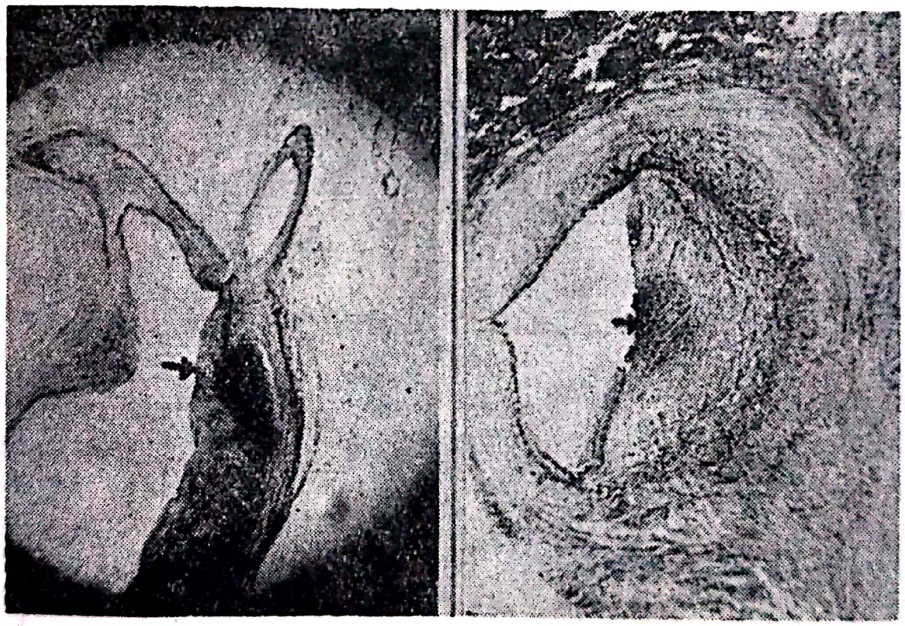


Fig. 67 **Placă aterosclerotică cu caracter pur fibros, evidenţiată în artera coronară stîngă a unui copil de 8 ani. În stînga microfotografiei zona de emergenţă a primei septale din artera descendentă anterioară cu placa fibroasă în punctul de emergenţă (săgeată). În dreapta microfotografiei, zona de maximă ocluzie (aproximativ 50% din diametrul lumenului) prezentată de placa fibroasă. Tricrom Masson, ×25 şi 85.**

în prezenţa factorilor de risc, aceştia din urmă contribuind la evoluţia leziunilor spre forme severe, cu caracter obstructiv. Rolul cheie jucat de placa aterosclerotică în apariţia bolii, precum şi în variatele sale forme de manifestare clinică, justifică importanţa pe care i-am acordat-o în prezenta monografie şi

Scanned with OKEN Scanner

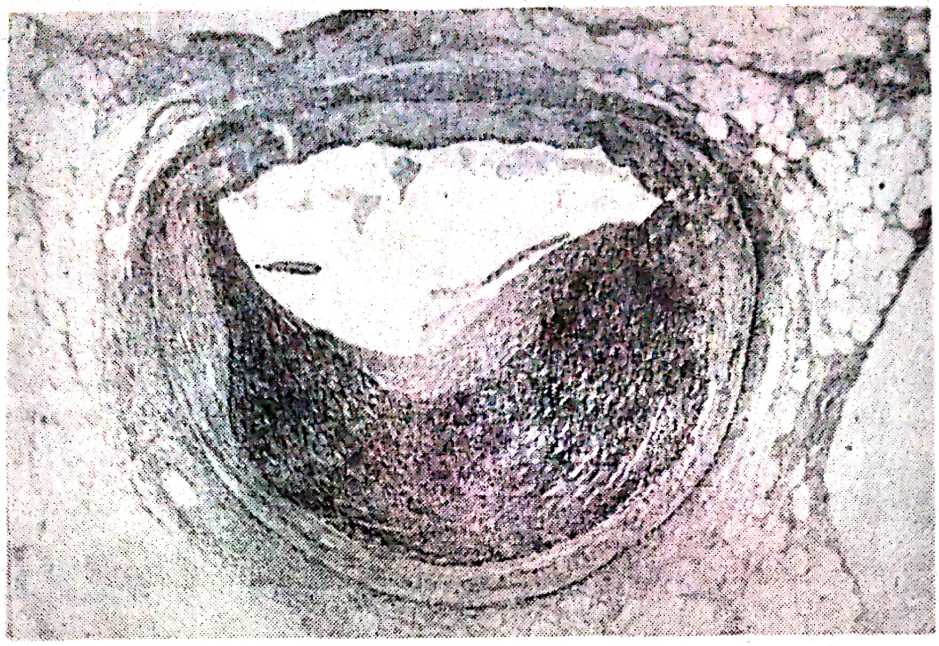


Fig. 68 Placă aterosclerotică cu caracter pur fibros, prezentă în artera circumflexă a unui adolescent de 18 ani. Zona de maximă ocluzie aproximativ 50% din diametrul vasului destins. Coloraţiile pentru lipide negative. Fucselină Weigert — albastru alcian, ×70.

mai ales în acest capitol care include: mecanismele implicate în histogeneza plăcilor, istoria naturală a dezvoltării leziunilor în arterele coronare de om şi studii privind gradul de reversibilitate al plăcilor aterosclerotice.

În fig. 67—69 prezentăm din colecţia laboratorului aspecte microscopice a unor plăci aterosclerotice evidenţiate în arterele coronare de copil (*fig. 67*), de adolescent (*fig. 68*) şi de adult (*fig. 69*).

1. METODE DE APRECIERE CANTITATIVĂ A LEZIUNILOR

Plăcile aterosclerotice (fibroase, fibro-mucoide, fibro-lipidice, fibro-mucoido-lipidice etc.), precum şi ateroamele (plăci cu centrul necrozat) pot fi uşor observate în cursul examenelor necropsice de rutină, diametrele acestor leziuni variind între 5 şi 10 mm. Plăcile pur fibroase au un aspect cenuşiu, cele care conţin şi lipide apar cenuşiu-gălbui, cele calcificate au şi zone albicioase. Toate plăcile *proemină în lumen* şi prezintă la palpare variate grade de indurație. Pentru o evidenţiere cît mai bună a componentei lipidice a leziunilor, se fixează fragmente mari de artere în formol şi apoi se imersionează timp de 16—18 ore la temperatura camerei într-o soluţie suprasaturată de sudan IV în izopropanol 38%. După această imersionare lipidele apar colorate în roşu aprins şi leziunile bogate în lipide sînt mult mai bine delimitate de ţesuturile din jur.

Aprecierea suprafeţei arteriale afectate de leziuni permite să se stabilească un „gradient macroscopic" al aterosclerozei. Tehnicile folosite pentru determinarea acestui gradient trebuie să îndeplinească următoarele calităţi:

Scanned with OKEN Scanner

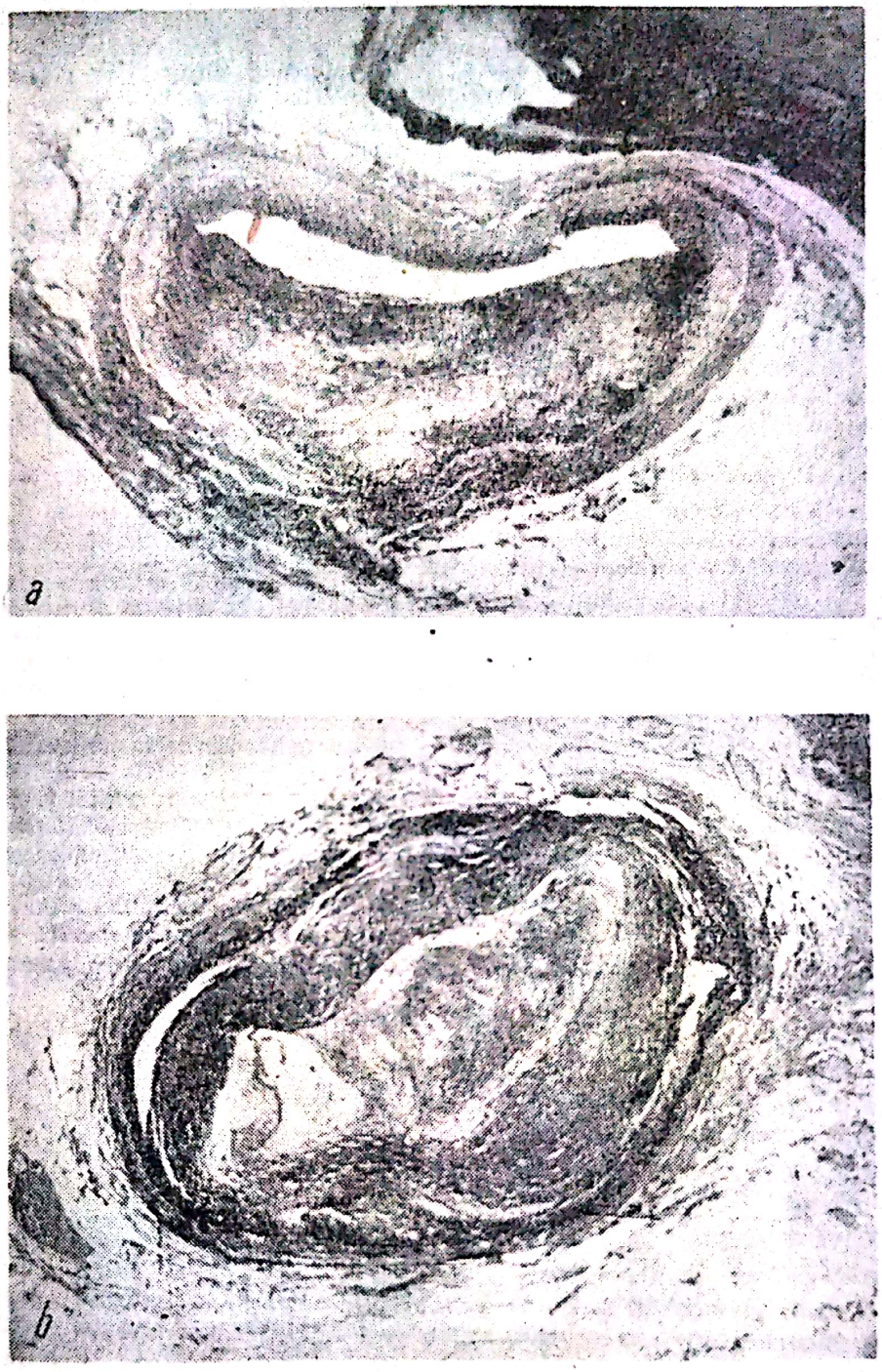


Fig. 69 Plăci aterosclerotice evidenţiate la adulţii tineri (a) şi la adulţii maturi (b). Importante focare de necroză şi acumulări lipidice. Placa din b are şi un net caracter stenozant, reducînd peste 80% din diametrul lumenului arterei coronare şi determinînd manifestări clinice de cardiopatie ischemică. Fucselină Weigert – albastru alcian, ×70.

— simplitate, permiţînd codificarea într-un interval scurt, de numai cîteva minute, fără a interfera cu mersul general al autopsiei;

— acurateţă, bazată pe o recunoaştere cît mai bună a leziunilor;

— reproductibilitate, dînd posibilitatea să se facă aceeaşi codificare în toate teritoriile arteriale analizate.

Scanned with OKEN Scanner

Dintre metodele propuse pentru aprecierea cantitativă a leziunilor de ateroscleroză, menționăm:

1. O tehnică permițind obținerea unui „profil numeric", alcătuit din patru cifre. Prima reprezintă suprafața totală observată macroscopic ca fiind afectată de leziuni, a doua cifră suprafața conținînd striuri lipidice, a treia cifră plăcile necomplicate și în sfîrșit a patra cifră plăcile complicate, prezentînd aspecte de ulcerare, trombozare și calcificare (MÉNDEZ și TEJADA 1969 a). Un profil numeric exprimat prin 50-100-0-0 ar indica lezarea a jumătate din suprafața arterei investigate, toate leziunile fiind de tipul striurilor lipidice, lipsind plăcile necomplicate sau complicate. Un profil numeric 50-50-25-25 ar indica o lezare a aproximativ jumătate din suprafața arterei, prin striuri lipidice (50%), plăci necomplicate (25%) și plăci complicate (25%).

2. O tehnică pentru gradarea leziunilor de ateroscleroză și determinarea extinderii lor, bazată pe un calcul special care permite să se evidențieze un „indice al aterosclerozei" sub forma unei cifre între 0 și 100 (GORE și TEJADA 1957). Conform acestei metode, plăcile se clasifică separat dacă au aspect pur fibros, necrotico-hemoragic, ulcerativ sau calcificat. Extinderea suprafeței lezate se determină pentru fiecare tip de leziune în parte, permițind o mai bună corelare între manifestările clinice și tipul de placă predominant.

3. O tehnică ce atribuie gradul I de leziune pentru striuri galbene sau galben-albicioase avînd dispoziție strict focală; gradul II pentru leziunile galbene confluente, cu îngroșarea evidentă a intimei, fără calcificare, necroză sau ulcerații; gradul III pentru plăcile complicate cu ulcerații, tromboze și calcificări (GIERSTEN 1960).

4. O metodă mai „obiectivă" a fost sugerată pentru evidențierea cantitativă a lezării coronarelor, bazată pe gradul de îngroșare a intimei, plecîndu-se de la observația că ar exista un paralelism între acest grad și dezvoltarea plăcilor aterosclerotice (DAOUD și col. 1962). Această metodă necesită un instrument special pentru măsurat grosimea intimei pe arterele secționate în cursul autopsiei.

5. Gravitatea leziunilor a fost evaluată și după o codificare ce se adresează gradului de obstrucție a lumenului, precum și suprafeței afectată de leziune (BAKER și col. 1967). Gradul I este atribuit leziunilor care afectează numai o mică parte a circumferinței vasului, fără reducerea diametrului lumenului. Gradul II codifică o placă puțin îngroșată, care nu interesează toată circumferința arterei, dar produce o mică obstruare a lumenului; aceeași grad este atribuit plăcilor mici, dar proeminente care reduc pînă la 25% din diametrul lumenului. Gradul III este caracterizat prin prezența unei plăci de grosime medie, dar difuză, interesînd, pe secțiunea transversală, toată circumferința vasului, cu reducerea moderată a lumenului; același grad este atribuit și unei plăci groase ce obstruează 25–30% din lumen. În sfîrșit,

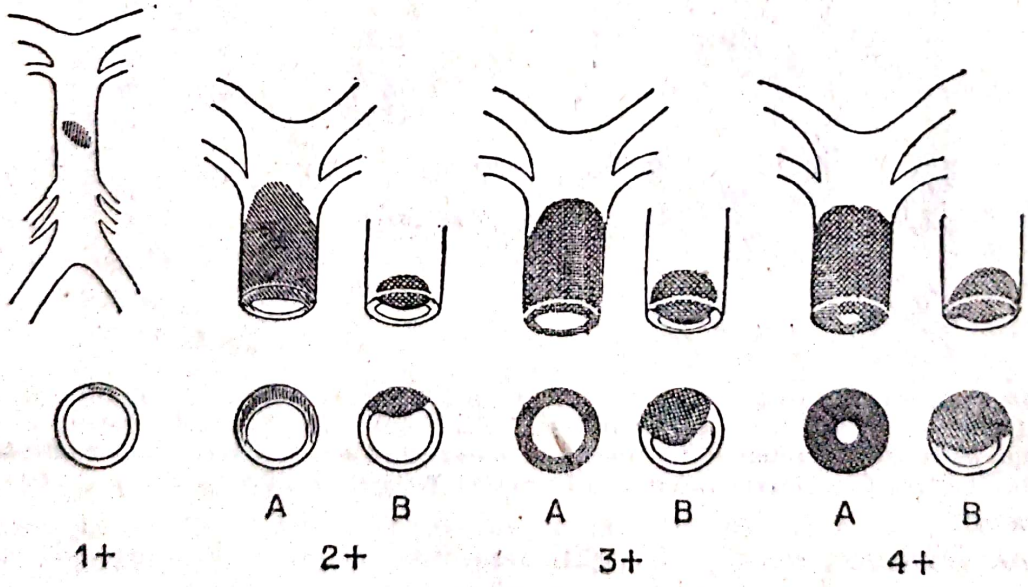


Fig. 70 Ghid de codificare a aterosclerozei, folosit în special pentru arterele poligonului lui Willis. A, indică suprafața peretelui arterial afectată de leziuni iar B, gradul obstrucției lumenului. Vezi text p. 262 (după BAKER, FLORA, RESCH, LOEWENSON 1967, cu permisiunea editurii Pergamon Press, Oxford).

Scanned with OKEN Scanner

gradul IV include plăci fibroase mari ce afectează toată suprafaţa de secţiune a arterei şi reduc în mod semnificativ lumenul, sau unor plăci groase, strict localizate, a căror proeminenţă în lumen produce obstrucţii de peste 50%. Acest tip de „ghid de codificare" este prezentat în *fig. 70.*

6. Pentru a diminua factorul de eroare reprezentat de variaţiile de calibru ale arterei investigate, s-a sugerat ca suprafaţa lezată (I) să fie raportată la suprafaţa totală a vasului secţionat (E). Valorile acestui raport I/E au arătat că este afectată mai sever artera carotidă internă în comparaţie cu artera bazilară a aceluiaşi subiect şi bazilara în comparaţie cu artera cerebrală mijlocie, cerebrala mijlocie în comparaţie cu artera cerebrală anterioară etc. Cu ajutorul aceleiaşi metode s-a demonstrat că în arterele coronare şi cerebrale, frecvenţa, întinderea şi severitatea leziunilor creşte cu diametrul vasului şi cu valorile presiunii sistolice (YOUNG şi col. 1960 a, b).

7. S-au propus metode bazate pe observaţie vizuală şi planimetrie şi pentru evaluarea cantitativă a aterosclerozei experimentale (VOLKOVA 1963).

8. Mai menţionăm tehnicile pentru evaluarea cantitativă a leziunilor folosind graticule (MORGAN şi ADAMS 1974), metode morfometrico-statistice (MASSMANN şi OESTREICH 1974), metode xerografice (HATA şi col. 1978), sau metode speciale de evaluare a „cantităţii" leziunilor localizate la emergenţe şi bifurcaţii (CORNHILL ŞI ROACH 1974).

9. De un interes deosebit se bucură şi asocierea determinărilor cantitative pe baza metodelor menţionate cu angiografia *post mortem* a coronarelor (ALLISON şi col. 1963; SCHOENMACKERS şi col. 1974). O metodă de însumare a suprafeţei afectată de leziuni în coronare, observată macroscopic, cu datele obţinute prin angiografie este recomandată pentru a corela parametrii clinici cu tipul şi extinderea leziunilor, precum şi pentru a aprecia eficacitatea anumitor tratamente (PETROSIAN şi IOSELIANI 1976). Mai menţionăm metode de histometrie cu prelucrarea automată a datelor, de o mare utilitate pentru determinarea gradului de îngroşare intimală a arterelor coronare (PESONEN şi col. 1974), sau metode folosite pentru determinarea dimensiunilor *post mortem* a diametrului arterelor şi grosimii peretelui, permiţînd evidenţierea unor diferenţe legate de vîrstă, sex, apartenenţă geografică şi apariţia leziunilor de ateroscleroză (RESTREPO şi col. 1973).

În încheierea acestui subcapitol menţionăm că este foarte important a cunoaşte, pentru fiecare metodă în parte, posibilităţile şi limitele, înainte de a o utiliza.

2. INCIDENŢA LEZIUNILOR CORELATĂ CU VÎRSTA, SEXUL, RASA ŞI PATOLOGIA GEOGRAFICĂ

Folosirea metodelor menţionate de apreciere cantitativă a leziunilor de ateroscleroză a stat la baza studiului de mari proporţii cunoscut sub denumirea de „International Atherosclerosis Project" organizat de OMS (McGILL 1968). În acest studiu s-au analizat macroscopic peste 25 000 seturi de aorte, artere coronare şi artere cerebrale, recoltate după o metodă standardizată în 14 ţări cu climă, mod de alimentaţie şi de viaţă diferite. Rezultatele demonstrează că segmentele arteriale ce conţin cantitatea cea mai mare de plăci aterosclerotice sînt artera descendentă anterioară a coronarei stîngi şi segmentul abdominal al aortei. La vîrstă şi condiţii de viaţă similare, bărbaţii au în mod constant leziuni mai numeroase şi mai severe decît femeile, cu tendinţă mai netă spre forme complicate şi mai ales stenozante. Această diferenţă legată de sex nu a putut fi evidenţiată şi la negrii, apărînd ca o caracteristică a rasei albe. S-au notat corelaţii pozitive între incidenţa infarctului de miocard şi a plăcilor aterosclerotice din arterele coronare, mai ales a acelora cu caracter obstructiv. Comparînd stadiile evolutive ale plăcilor aterosclerotice din arterele coronare cu rata mortalităţii prin infarct de miocard sau moarte cardiacă subită, s-a constatat că există o tendinţă a bolii de a produce manifestări clinice cu evoluţie fatală cînd leziunile au atins un anumit prag de severitate. Acest prag poate fi indus de apariţia de tromboze suprapuse plă-

Scanned with OKEN Scanner

cilor, sau/şi de acumulări masive, la baza ateroamelor, de lipide şi material necrotic ce propulsează leziunea spre lumenul arterei. Dacă se compară grupa de pacienţi decedaţi prin infarct de miocard cu subiecţii avînd plăci aterosclerotice dar fără manifestări clinice de cardiopatie ischemică, se constată că, în condiţii similare de vîrstă, sex, mod de viaţă şi influenţe de mediu, leziunile sînt mai numeroase, mai severe şi cu caracter obstructiv mai net la pacienţii decedaţi prin infarct de miocard. La anumite populaţii s-a evidenţiat un „prag" de dezvoltare a plăcilor peste care riscul de a face cardiopatie ischemică cu evoluţie fatală creşte rapid, mult mai rapid decît ar putea fi dedus din severitatea leziunilor. La alte populaţii leziunile în arterele coronare sînt numeroase, cu aspecte de plăci complicate, dar această creştere a numărului şi severităţii leziunilor nu este reflectată şi printr-o incidenţă mărită a cardiopatiei ischemice. Mai menţionăm că în grupe de populaţii aparent omogene s-au putut evidenţia subgrupe cu nivel foarte ridicat, sau dimpotrivă, foarte scăzut de dezvoltare a plăcilor aterosclerotice. Rata dezvoltării leziunilor în arterele coronare nu reprezintă un indiciu asupra frecvenţei plăcilor aterosclerotice în aortă, artere cerebrale sau artere renale, atunci cînd se analizează indivizi izolaţi; pe grupe mari de populaţii, afectarea unui teritoriu arterial poate însă reflecta gradul general de dezvoltare a plăcilor aterosclerotice.

S-au putut face corelaţii pozitive între cantitatea de plăci aterosclerotice din artere şi bogăţia în colesterol şi grăsimi saturate a alimentaţiei, dacă s-au comparat între ele grupele de populaţii; în cadrul aceluiaşi grup populaţional, relaţia dintre leziune şi lipidele din dietă nu a apărut semnificativă .

Pacienţii cu hipertensiune arterială au, în comparaţie cu normotensivii de vîrstă similară, o afectare coronariană mai severă prin plăci cu caracter stenozant; observaţii comparative similare se referă la grupe de diabetici şi nediabetici. Atît hipertensiunea arterială, cît şi diabetul, apar ca factori care măresc incidenţa şi gradul de severitate al leziunilor. Asocieri negative s-au notat între incidenţa plăcilor aterosclerotice în arterele coronare şi reumatismul cardiac (JDANOV 1976), precum şi între ateroscleroză şi cancer (KAGAN 1976). În mod special incidenţa leziunilor aterosclerotice a apărut diminuată la pacienţii cu cancer gastric, uterin şi de glandă mamară (JDANOV şi VIKHERT 1975). În ceea ce priveşte ciroza hepatică, cercetări recente nu confirmă observaţii mai vechi privind frecvenţa mai redusă a plăcilor aterosclerotice (AUZEPY şi col. 1978).

Fumatul măreşte incidenţa plăcilor aterosclerotice din arterele coronare la toate grupele de vîrstă, la ambele sexe şi la toate rasele, mai ales în perioada 25—65 ani. În segmentul abdominal al aortei suprafaţa afectată de plăci este dublă la fumătorii inveteraţi comparativ cu nefumătorii de vîrste similare (STRONG şi RICHARDS 1976).

Aprecierile cantitative privind incidenţa plăcilor aterosclerotice corelate cu anumiţi factori de risc sînt cu atît mai greu de efectuat cu cît indivizii au o vîrstă mai înaintată.

Studiile de patologie geografică au adus date interesante şi în ceea ce priveşte rolul factorului „timp" în apariţia şi evoluţia leziunilor. În acest sens menţionăm un studiu comparativ între populaţiile a două oraşe, cu nivel de viaţă diferit şi mortalitate diferită prin cardiopatie ischemică: New Orleans şi Guatemala. În New Orleans, în comparaţie cu Guatemala, atît striurile lipidice, cît şi plăcile fibroase şi leziunile complicate apar cu aproximativ 10

Scanned with OKEN Scanner

ani mai devreme decît în Guatemala, iar suprafaţa afectată de leziuni este de 5—6 ori mai mare (MÉNDEZ şi TEJADA 1969 b). Studii bazate pe planimetrie, incluzînd grupe de populaţii din mediul urban şi rural, precum şi un grup angajat în munci intelectuale grele, au demonstrat caracterul obstructiv mai sever la subiecţii din grupul cu munci intelectuale şi afectarea aterosclerotică mai intensă a populaţiei urbane comparativ cu cea rurală. Aceste diferenţe au fost semnificative în arterele coronare, dar nesemnificative în aortă (VIKHERT şi JDANOV 1977).

Observaţii de un interes deosebit, privind patologia geografică a aterosclerozei, se referă şi la arterele cerebrale. Incidenţa plăcilor fibroase şi rata extinderii leziunilor par a fi identice în vasele perechi, astfel încît determinările cantitative efectuate într-o arteră au valoare predictivă şi pentru omoloaga sa, prezentă de cealaltă parte a poligonului lui Willis. (SOLBERG şi col. 1968). Spre deosebire de arterele coronare, incidenţa plăcilor aterosclerotice în arterele cerebrale nu este semnificativ influenţată de sex, mod de alimentaţie, grad de dezvoltare economică etc. Aceasta explică şi incidenţa crescută a manifestărilor clinice ale aterosclerozei cerebrale la grupe de populaţii cu afectare modestă prin cardiopatie ischemică. Astfel, în Japonia, decesele prin accidente vasculare cerebrale s-au ridicat la 25,8% din totalul cauzelor care au dus la *exitus*, în comparaţie cu 12,6% prin cardiopatie ischemică (OONEDA şi col. 1976). La negrii din Statele Unite, principala cauză de deces este accidentul vascular cerebral, pe cînd la albi cardiopatia ischemică. Autopsiile negrilor din Statele Unite au evidenţiat un număr mai mare de plăci aterosclerotice în arterele cerebrale comparativ cu albii de vîrste similare; negrii din Statele Unite au, de asemenea, o incidenţă mai mare a plăcilor aterosclerotice în arterele cerebrale în comparaţie cu negrii din Jamaica sau din Africa (SOLBERG şi McGARRY 1972). La populaţia albă există diferenţe mici, nesemnificative, în incidenţa plăcilor aterosclerotice a arterelor cerebrale în Statele Unite, Grecia, Norvegia, Israel, Polonia etc., pe cînd incidenţa plăcilor în arterele coronare prezintă diferenţe semnificative. În India, afectarea arterelor cerebrale este similară cu aceea a populaţiei albe din Statele Unite deşi condiţiile de viaţă sînt mult diferite (BAKER şi col. 1967). Studiul de la Framingham, ca şi numeroase alte investigaţii cu caracter longitudinal, au demonstrat că hipertensiunea arterială este pe tot globul principalul factor de risc al accidentelor vasculare cerebrale, principala cauză a creşterii incidenţei şi severităţii plăcilor aterosclerotice în arterele cerebrale. În studiul de la Framingham diferenţa dintre hipertensivi şi normotensivi în apariţia accidentelor vasculare cerebrale a fost de 7/1 (KANNEL şi col. 1976 a). Tot din acelaşi studiu a rezultat că numai 10 din cele 105 infarcte cerebrale au apărut la pacienţi cu presiunea arterială sub 140/90 mm Hg.

Incidenţa dezvoltării plăcilor aterosclerotice în arterele cerebrale, corelată cu vîrsta, rămîne un subiect controversat. Subliniem că anumiţi autori susţin a fi evidenţiat aceste plăci din al treilea deceniu al vieţii, înaintea apariţiei striurilor lipidice (SUZUKI 1974). În alte studii se menţionează doar o incidenţă de 0,3—0,5% în primele trei decenii ale vieţii, urmată de o creştere lineară şi rapidă a acestei incidenţe pînă la 98% la vîrstnici (FLORA şi col. 1968). Pe alte grupe de populaţii s-a evidenţiat o incidenţă a leziunilor de ateroscleroză din arterele cerebrale de 2,27% în al treilea deceniu şi de 87,5% în al şaptelea deceniu (TICHY şi col. 1953), precum şi de 7% la băr-

Scanned with OKEN Scanner

bații între 40—49 ani și de 20,8% la femeile între 60—70 ani (NUUTILA 1973).

Plăcile aterosclerotice dezvoltate în arterele de la baza creierului sînt predominant de tip fibros, ajungînd mult mai rar să includă centrii necrotici, comparativ cu plăcile din arterele coronare. Drept urmare și ulcerarea este mai rară, mecanismele implicate în producerea trombozei fiind în primul rînd fisurile ce apar la periferia leziunilor (CONSTANTINIDES 1967). Mai menționăm, în încheiere, că incidența plăcilor aterosclerotice a apărut diminuată la pacienții cu cancer, ulcer gastric și duodenal, hepatită cronică și ciroză hepatică (KLASSEN și col. 1973).

Considerăm necesar a sublinia, eforturile care se fac nu numai pentru evidențierea incidenței leziunilor corelată cu vîrsta, sexul, rasa și factorii de mediu ci și pentru obiectivizarea rapidității evoluției leziunilor. Un anumit progres pe această linie de investigație îl reprezintă examenele coronarografice repetate la interval de aproximativ 12 luni, cu unghiuri de incidență standardizate, apte a permite măsurarea în același punct a diametrului arterei. Prin folosirea acestei metode s-a putut demonstra că la tineri, progresiunea leziunilor este sub dependența unor factori puțin supuși controlului medical, cum ar fi stresul psihic și comportamentul social; dintre factorii asupra cărora medicul poate interveni cel mai important a apărut fumatul. Gradul de progresiune a leziunilor nu a putut fi corelat la tineri cu valorile colesterolemiei, în timp ce la bătrîni această corelare a fost evidentă atît cu hipercolesterolemia cît și cu prezența diabetului (ABRAHAMS și col. 1978).

S-au propus și modele matematice pe baza cărora s-a formulat o teorie a probabilității în ateroscleroză (AVTANDILOV 1970). Se poate calcula tendința de extindere a leziunilor în variate teritorii arteriale (aortă, artera coronară dreaptă, artera descendentă anterioară, artera circumflexă etc.), precum și probabilitatea extinderii leziunilor la fumători în comparație cu nefumătorii de vîrste similare, la hipertensivi în comparație cu normotensivii, la hipercolesterolemici în comparație cu normocolesterolemicii, la diabetici în comparație cu nediabeticii etc.

B. ROLUL ATEROGEN AL UNOR FACTORI FIZICI

1. AGRESIUNI MECANICE

a. DATE INTRODUCTIVE

Producerea unor agresiuni mecanice asupra peretelui arterial și în special asupra endoteliului este considerată în multe lucrări mecanismul patogenic principal în histogeneza plăcilor aterosclerotice. Aceste plăci ar rezulta din procese reparatoare aberante, depunerile de lipide și de fibrină reprezentînd fenomene secundare. În domeniul patologiei umane principalul factor apt a produce agresiuni mecanice este stresul hemodinamic și în special cel de dragare. În domeniul patologiei experimentale, sfera acestor agresiuni este foarte mare, incluzînd traumatizările chirurgicale, prin cauterizare, scarificare, denudarea endoteliului, erodări prin sonde introduse în lumenul vasului, întinderi forțate, mobilizări ale arterelor, ligaturi unice sau duble, șunturi, hiper- sau

Scanned with OKEN Scanner

hipotensiune gravă etc. Răspunsul peretelui arterial la aceste agresiuni mecanice este destul de stereotip: destrucţii şi descuamări ale celulelor endoteliale, edem subendotelial, alterări ale lamelor elastice, proliferări ale celulelor musculare din medie şi din intimă, sinteză intimală de colagen şi mucopolizaharide acide etc. Multe din aceste procese reparatoare se desfăşoară aparent după o programare genetică şi sînt urmate de *restitutio ad integrum;* altele însă, considerate ca aberante, se abat de la această programare, apărînd în special sub aspectul unor proliferări nodulare masive din care pot rezulta plăcile fibroase aterosclerotice.

Pentru studiul dezvoltării leziunilor de ateroscleroză în diferite modele experimentale s-a propus o ecuaţie în care principalii factori aterogeni sînt reprezentaţi de agresiunea mecanică şi de hipercolesterolemie (CONSTANTINIDIS 1965):

$$\text{ateroscleroza} = \Sigma\,(HA)\,pd + \Sigma\,t$$

Conform acestei ecuaţii, histogeneza leziunilor ar rezulta din interacţiunea hiperlipemiei (H) cu o agresiune mecanică (A), la care se adaugă efectele aterogene exercitate de presiunea arterială (p), durata experimentului (d) şi asocierea trombozei (t). Se poate calcula, folosind valorile de mai sus, cît creşte suprafaţa afectată de leziuni prin mărirea valorilor colesterolemiei, intensităţii agresiunii mecanice, asocierii hipertensiunii arteriale, a trombozei etc. În condiţii experimentale, efectul aterogen apare cu atît mai puternic cu cît valorile colesterolemiei sînt mai ridicate şi agresiunea mecanică mai severă. O hipercolesterolemie cu valori foarte ridicate prin exces de colesterol alimentar poate deveni ea însăşi un factor de agresiune asupra endoteliului; o hipercolesterolemie moderată poate exercita acelaşi efect aterogen ca o hipercolesterolemie foarte ridicată, dacă se asociază cu agresiuni mecanice asupra endoteliului; în sfîrşit, o colesterolemie normală poate deveni aterogenă dacă artera este supusă unor agresiuni mecanice severe ce favorizează, în timp, acumulările lipidice. Se poate astfel explica de ce, agresiuni şi hipercolesterolemii considerate „la limită", pot deveni aterogene dacă acţionează timp îndelungat.

b. OBSERVAŢII EXPERIMENTALE

De un interes deosebit par a fi rezultatele care susţin existenţa unei corelaţii între natura plăgii produse experimental şi răspunsul peretelui arterial. S-a demonstrat că o incizie superficială în sens longitudinal, interesînd endoteliul şi zona subendotelială, induce o proliferare fibro-elastică cu aspect de îngroşare intimală, ce dispare în aproximativ două luni cu *restitutio ad integrum.* Dacă incizia superficială a fost efectuată în sens transversal, apare o îngroşare intimală similară cu cea produsă de incizia longitudinală, dar ea nu mai prezintă semne de regresiune, persistînd la două luni de la incizie şi avînd în plus şi tendinţa de a acumula lipide (BJORKERUD 1969). Aceste observaţii sugerează că plăgile vasculare superficiale, produse în direcţia scurgerii coloanei sanguine dau naştere la reacţii reparatoare ce permit refacerea microarhitecturii locale după tipul existent înaintea agresiunii mecanice. Dacă însă plaga superficială are o orientare perpendiculară pe direcţia de scurgere a coloanei de sînge, îngroşarea intimală persistă şi apar condiţii favorabile acumulării lipidelor. S-a mai observat că în timp ce în plaga superficială cu orientare longitudinală reendotelializarea se produce rapid şi complet, în plaga

Scanned with OKEN Scanner

superficială cu orientare transversală procesul de refacere a endoteliului este mult mai lent; în anumite zone el are chiar un caracter discontinuu şi pare mai puţin rezistent la stresul hemodinamic decît endoteliul iniţial. Aceste defecte de reendotelializare favorizează adeziunea trombocitelor şi agregarea lor ulterioară, precum şi acumulările de reţele de fibrină, creîndu-se astfel condiţiile formării unui trombus pe zona cu endoteliul alterat.

Dacă plaga longitudinală este mai adîncă, interesînd şi media arterei, îngroşarea intimală apare mult mai severă, iar plaga prezintă numeroase resturi necrotice, avînd în plus tendinţa la calcificare şi la încapsulare conjunctivă. Inconstant s-au semnalat capilare de neoformaţie, infiltrate de tip inflamator şi celule gigante. La aceste plăgi profunde endoteliul se reface doar în parte, rămînînd permanent mici zone în care ţesutul conjunctiv subendotelial este în contact direct cu coloana de sînge în mişcare. S-a mai constatat o corelare pozitivă între gradul îngroşării intimei şi severitatea alterării mediei, precum şi o corelare pozitivă între abundenţa materialului necrotic pe de o parte, încapsularea, calcificarea şi capilarizarea plăgii, pe de altă parte. În sfîrşit, mai menţionăm că formarea de tromboze pe suprafaţa arterei traumatizate sau în intima îngroşată apare dependentă de refacerea incompletă a endoteliului lezat (BJORKERUD şi BJONDERS 1971). În esenţă, răspunsul peretelui arterial la agresiunea mecanică variază în funcţie de direcţia plăgii, profunzimea şi întinderea ei, aşa cum sugerează *fig. 71*. Natura profundă a plăgii în direcţie longitudinală, sau natura superficială a plăgii în direcţie transversală, reprezintă factori favorizanţi pentru acumularea lipidică la un animal ţinut la dietă standard. Cantitatea de lipide acumulată este în mare parte dependentă de valorile colesterolemiei; dacă endoteliul este lezat la un animal normocolesterolemic, cantitatea de colesterol reţinută în intima îngroşată depăşeşte de aproximativ 30 de ori rata normală de pătrundere prin peretele arterial; dacă animalul devine hipercolesterolemic, rata de pătrundere a colesterolului poate depăşi de 100 de ori pe cea normală (BJORKERUD şi BONDJERS 1976). Această ultimă rată se reduce de aproximativ 10 ori dacă endoteliul se reface deşi hipercolesterolemia persistă. Aceste experimente susţin

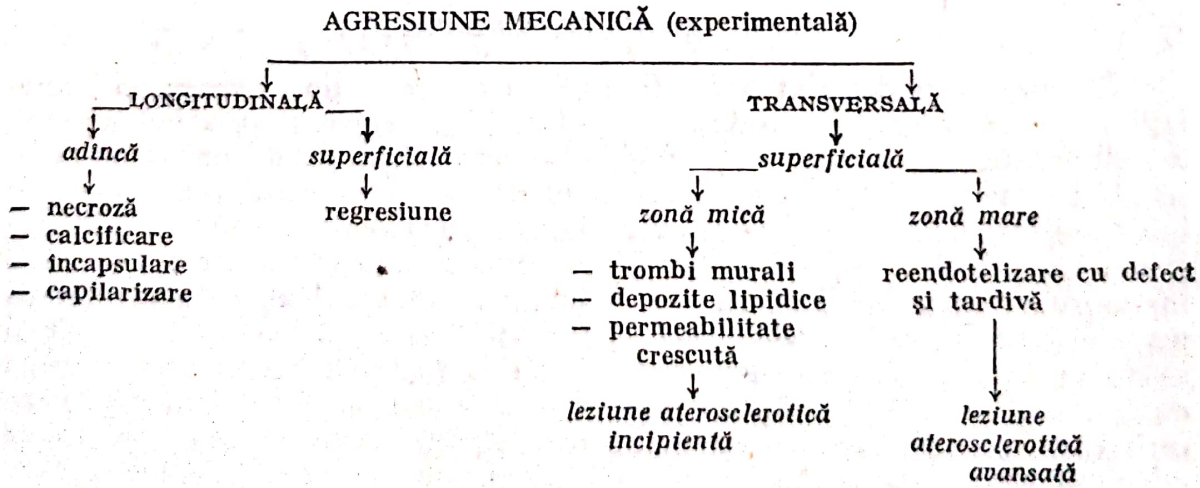


Fig. 71 Prezentare schematică a reacţiilor peretelui arterial şi în special a zonei endotelio-subendoteliale la plăgi superficiale şi profunde, longitudinale sau transversale, corelate cu histogeneza leziunilor de ateroscleroză. Rezultate bazate pe observaţiile efectuate de BJORKERUD şi BJÖNDERS (1971, 1973, 1976).

Scanned with OKEN Scanner

valoarea ecuației prezentată anterior în acest subcapitol și în care se sublinia dependența histogenezei leziunilor de ateroscleroză de interacțiunea dintre agresiunea mecanică asupra peretelui arterial și colesterolemie (p. 408). O mare parte a lipidelor din plagă sînt însă provenite și din sinteze locale, mai ales esterii de colesterol bogați în acid oleic. Prezența colesterolului esterificat cu acid oleic atît în zonele lipsite de endoteliu, cît și în cele reendotelializate, sugerează rolul celulelor musculare din peretele arterial în elaborarea unei părți a lipidelor acumulate. Concomitent cu sinteza crescută de esteri de colesterol se produce și o diminuare a ratei de hidroliză a acestor esteri, ambele procese favorizînd acumularea respectivilor esteri. Compoziția lipidelor ce se acumulează în aceste plăgi cu cicatrizare defectuoasă este similară celor din striurile lipidice din arterele de om, unde apar predominante tot sinteze locale. Modelul experimental prezentat nu aduce contribuții însemnate la înțelegerea mecanismului acumulărilor masive de lipide din ateroame, cu o compoziție chimică similară β-lipoproteinelor, predominînd colesterolul esterificat cu acid linoleic. Rezultatele experimentului menționat sugerează însă că integritatea endoteliului este principalul factor antiaterogen și că pierderea acestei integrități pare a fi mai importantă pentru histogeneza plăcilor aterosclerotice decît acumularea lipidică. Corelată cu eroziunile endoteliale apare și formarea de tromboze pe suprafața denudată și creșterea locală a sintezei de esteri de colesterol (BJÖRKERUD și BONDJERS 1973).

În sprijinul importanței deosebite acordate alterărilor endoteliale ca punct de plecare a modificărilor ce au ca stadiu final apariția plăcilor aterosclerotice, menționăm și un alt experiment în care agresiunea mecanică s-a efectuat asupra arterelor iliace de șobolan, prin introducerea unui cateter în lumen. Animalele, cunoscute pentru rezistența lor la ateroscleroza experimentală, au fost ținute la dietă standard în tot cursul experimentului. Cateterul din lumen a produs agresiuni superficiale și profunde, localizate și extinse, urmărindu-se modul cum se face cicatrizarea. După mai multe săptămîni au apărut variate tipuri de leziuni, unele similare striurilor lipidice, altele similare plăcilor gelatinoase și în sfîrșit altele similare plăcilor fibroase sau chiar ateroamelor (BONDJERS și BJÖRNHEDEN 1970). La maimuțe, alterarea endoteliului tot cu ajutorul unui cateter introdus în arterele iliace a dat naștere la răspunsuri aberante, de tipul leziunilor de ateroscleroză obținute și la șobolan sau la iepurele de casă. S-a mai constatat reversibilitatea leziunilor cînd plaga era superficială și în direcție longitudinală iar agresiunea nu se mai repeta, precum și evoluția spre placă fibro-lipidică cînd plaga era transversală, profundă și afecta o suprafață mai mare a peretelui arterial (STEMERMAN și ROSS 1972). Din datele prezentate se poate trage concluzia că la trei specii diferite de animale, iepure de casă, șobolan și maimuță, cu susceptibilități diferite la ateroscleroza experimentală și spontană, lezarea suprafeței endoteliale și a zonei subendoteliale a determinat un răspuns reparator aberant cu aspect asemănător plăcilor aterosclerotice. Reamintim că în toate cele trei experimente animalele au fost ținute la diete standard, neaterogene, singurul factor ce poate fi implicat în aterogeneză fiind eroziunea endotelială.

Introducerea unei emulsii de ulei de soia între două ligaturi efectuate pe artera carotidă de iepure a fost urmată de îngroșare intimală, reversibilă după aporximativ o săptămînă. În comparație cu lotul martor, la care s-a injectat între cele două ligaturi soluție Ringer, principala modificare a fost acumularea de vacuole lipidice în celule din intima îngroșată. Dacă în locul uleiu-

Scanned with OKEN Scanner

lui de soia s-au introdus, între cele două ligaturi, lipoproteine, au apărut aceleaşi vacuole lipidice în care erau degradate macromoleculele injectate. În sfîrşit, dacă între cele două ligaturi s-a injectat ser fiziologic, vacuolele lipidice au fost din nou prezente, proporţia de celule cu aceste vacuole fiind de 25% în prima zi de experiment, de peste 45% în ziua a 7-a, pentru a scădea apoi progresiv pînă la dispariţie. În aceste celule lipidele proveneau din sinteză locală şi chimic erau diferite de cele înglobate după injectare de ulei de soia şi emulsie de lipoproteine. Dar şi la animalele injectate cu lipide exogene erau multe vacuole care conţineau lipide provenite din sinteză locală, ceea ce demonstrează că factorul comun al apariţiei acestor celule l-a reprezentat hipoxia (HOFF şi GOTTLOB 1969 a, b; HOFF 1970). Hipoxia a alterat permeabilitatea endoteliului şi metabolismul peretelui arterial, apărînd ca un factor aterogen mai important în condiţiile experimentale menţionate decît modificările cantitative sau calitative ale lipidelor din lumenul arterei.

Mai menţionăm că în anumite modele experimentale s-a folosit agresiunea mecanică asupra endoteliului pentru a induce îngroşări intimale aberante cu caracter ocluziv, apte a produce infarcte de miocard. Astfel, la porc, introducerea unui cateter în arterele coronare a lezat endoteliul, zona subendotelială şi zona superficială a mediei la nivelul segmentului proximal al coronarelor dreaptă şi stîngă. Procesul reparator a luat aspectul unei plăci fibroase care, la 10 din cele 22 animale investigate a produs ocluzii severe urmate de infarct miocardic şi de moarte subită prin fibrilaţie ventriculară (LEE şi LEE 1975). Infarctul a apărut la 2—3 luni de la producerea agresiunii asupra endoteliului arterelor coronare. Dacă ulterior apariţiei eroziunilor endoteliale, animalele erau ţinute la diete bogate în colesterol, caracterul obstructiv al plăcilor se accentua datorită acumulărilor lipidice. S-a mai obţinut o potenţare a caracterului obstructiv al plăcilor menţionînd animalele la diete lipsite de colesterol dar supunîndu-le la iradiaţii cu raze X pe zona precordială.

În anumite lucrări se subliniază importanţa constelaţiei endocrine în momentul producerii eroziunii endoteliale. Astfel, la şobolanii virgini, impuberi, iritaţia mecanică a endoteliului a dat naştere la reacţii proliferatoare aberante cu aspect de placă fibroasă, procesul dominant fiind proliferarea nodulară a celulelor musculare şi neoformarea de fibre şi de substanţă fundamentală. La animalele pubere, surprinse în perioada de reproducere, acelaşi tip de iritaţie mecanică asupra endoteliului a determinat apariţia unor procese degenerative, necrozante, în timp ce proliferarea celulară şi neoformarea de fibre reprezenta o componentă minoră a răspunsului peretelui arterial (WEXLER 1971). S-a sugerat, pe baza observaţiilor rezultate din acest experiment, că hiperfuncţia axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal, existentă la animalele în perioada de reproducere, ar potenţa apariţia proceselor degenerative în locul celor proliferative, ca răspuns la agresiunile mecanice asupra endoteliului.

S-au notat alterări ale celulelor endoteliale cu creşterea permeabilităţii endoteliului şi după iradiaţii cu raze X, în anumite puncte iradiate formîndu-se şi tromboze. Alterările endoteliale şi răspunsurile reparatoare ar explica apariţia susceptibilităţii la ateroscleroză după iradiaţii cu raze X a unor specii de animale spontan rezistente bolii. Menţionăm astfel posibilitatea de a produce leziuni de ateroscleroză experimentală în arterele coronare de şobolan dacă animalul a fost în prealabil iradiat (GOLD 1961, 1962). S-au putut

Scanned with OKEN Scanner

face asocieri pozitive între numărul de R administrați în cursul iradiației, intensitatea procesului de necroză intimală și cantitatea de lipide acumulate în intima lezată (AMROMIN și col. 1964).

c. OBSERVAȚII ASUPRA ARTERELOR DE OM

Rezultatele a numeroase investigații experimentale au sugerat că și la om agresiunile asupra endoteliului și mai ales apariția eroziunilor endoteliale reprezintă punctul de plecare al histogenezei plăcilor aterosclerotice (HAUST 1970; BJORKERUD și BJONDERS 1976; ROSS și GLOMSET 1976). O încercare de a schematiza rolul agresiunii asupra endoteliului, cu procesele reparatoare pe care le declanșează și apariția leziunilor de ateroscleroză este schematizată în *fig. 72* și *73*.

Ipoteza menționată este susținută de frecvența tot mai mare cu care sînt evidențiate zonele de eroziune endotelială, mai ales la nivelul punctelor de emergență și a segmentelor proximale ale principalelor artere din patul coronarian, precum și în segmentul abdominal al aortei (vezi fig. 5).

Dintre factorii care pot produce eroziuni endoteliale la om, pe primul plan se situează stresul de dragare, ale cărui efecte nocive au fost analizate în capitolul II. În zonele considerate a fi supuse unor agresiuni mecanice maxime din partea acestui stres se întîlnesc cu frecvență maximă și erodările endoteliale. Tot în aceste zone se produc frecvent și adeziunea și agregarea trombocitelor, cu formarea de microtrombi trombocitari. Acești microtrombi eliberează factorii ce stimulează proliferarea celulelor musculare din intima îngroșată, proliferare care mai este potențată și de pătrunderea masivă a β-lipoproteinelor. Din proliferarea celulară poate rezulta o intimă mult îngroșată sau un nodul ce se delimitează de țesutul intimal din jur și care va da

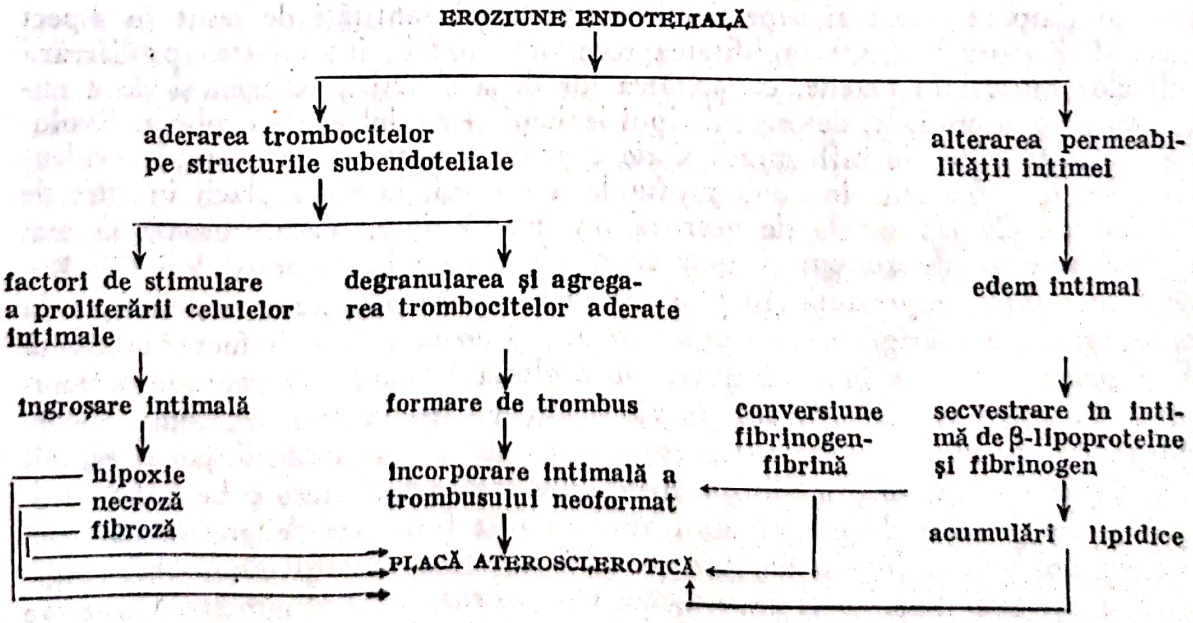


Fig. 72 Mecanismele patogenice ale implicării eroziunii endoteliale în histogeneza plăcilor aterosclerotice.

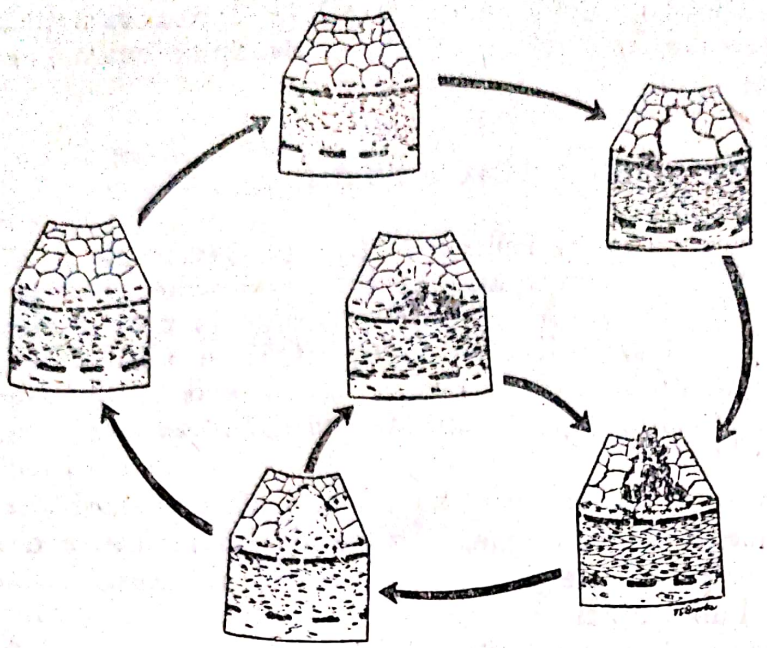


Fig. 73 Diagramă sugerînd rolul eroziunilor endoteliale ca mecanism patogenic principal în apariţia plăcilor aterosclerotice. Imaginea de sus reprezintă endoteliul normal, prima din dreapta endoteliul erodat de stresuri hemodinamice (de dragare) sau de alţi factori mecanici, biologici sau chimici. În dreapta jos apare aderarea trombocitelor pe suprafaţa denudată. De la acest stadiu leziunea poate regresa (stînga) sau evolua spre formarea unei plăci aterosclerotice (centrul imaginei). Acumulările lipidice apar numai după ce s-a atins stadiul lezional caracteristic aterosclerozei prezent în centrul imaginei (după ROSS şi GLOMSET 1976, cu permisiunea editurii Blackwell Scientific Publications, Oxford).

naştere unei plăci fibroase. Dacă eroziunea este urmată de o reendotelializare rapidă, intensitatea proliferării celulelor musculare se reduce pînă la un nivel practic nedetectabil cu metodele actuale, revenindu-se aparent la microarhitectura iniţială. Dacă reendotelializarea este defectuoasă, producîndu-se un strat de celule ce este din nou erodat, fiecare nouă descuamare este urmată de un puseu de proliferare a celulelor musculare netede şi de pătrunderea unor mari cantităţi de lipoproteine şi fibrinogen în intima îngroşată. Succesiunea puseurilor de proliferare este reflectată de stratificarea intimei sau a plăcii fibroase, zonele cele mai profunde fiind mai bogate în fibre groase de colagen, în timp ce cele mai superficiale conţin mari cantităţi de ţesut cu aspect mucoid. Raportul dintre rapiditatea reendotelializării, intensitatea proliferării celulelor musculare netede, capacitatea lor de a sintetiza colagen şi de a migra spre zona erodată, determină tipul leziunii şi modul ei de evoluţie. Evoluţia mai este puternic influenţată şi de apariţia proceselor de necroză, evidenţiate cel mai frecvent în zona profundă a intimei, la baza plăcii în curs de dezvoltare. Cu cît zonele de necroză sînt mai întinse, placa fibroasă ia mai curînd aspectul de aterom şi apar condiţiile favorabile ulcerării leziunii. Zonele de necroză reprezintă, în plus teritorii în care lipidele se acumulează în mare cantitate, mărind caracterul obstructiv al leziunii. Un alt factor adiţional care poate influenţa în mod hotărîtor evoluţia leziunii îl reprezintă acumulările de reţele de fibrină direct în placă sau sub forma de microtrombi încorporaţi de pe suprafaţa erodată. Prezenţa acestor microtrombi impune leziunii o evoluţie mai rapidă spre forme stenozante fără a mai trece prin stadii ulcerative. Importante dovezi în acest sens au fost furnizate de grefele de venă safenă implantate în circulaţia coronariană pentru revascularizarea chirurgicală a miocardului. Unele investigaţii menţionează în 73% din aceste grefe prezenţa unor microtrombi încorporaţi în intima venei, din a căror suprapunere şi organizare conjunctivă rezultă plăci fibroase aterosclerotice. Apariţia

Scanned with OKEN Scanner

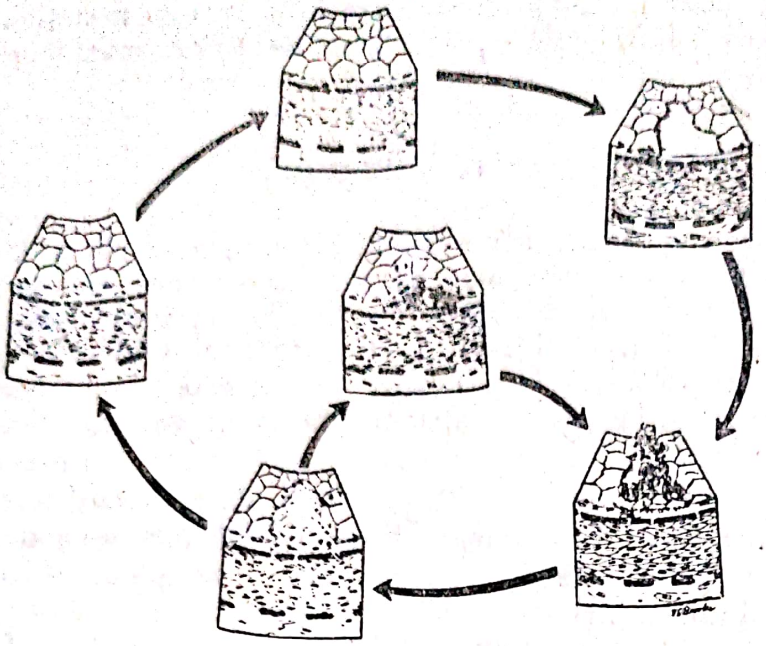


Fig. 73 Diagramă sugerînd rolul eroziunilor endoteliale ca mecanism patogenic principal în apariţia plăcilor aterosclerotice. Imaginea de sus reprezintă endoteliul normal, prima din dreapta endoteliul erodat de stresuri hemodinamice (de dragare) sau de alţi factori mecanici, biologici sau chimici. În dreapta jos apare aderarea trombocitelor pe suprafaţa denudată. De la acest stadiu leziunea poate regresa (stînga) sau evolua spre formarea unei plăci aterosclerotice (centrul imaginei). Acumulările lipidice apar numai după ce s-a atins stadiul leziunal caracteristic aterosclerozei prezent în centrul imaginei (după ROSS şi GLOMSET 1976, cu permisiunea editurii Blackwell Scientific Publications, Oxford).

naştere unei plăci fibroase. Dacă eroziunea este urmată de o reendotelializare rapidă, intensitatea proliferării celulelor musculare se reduce pînă la un nivel practic nedetectabil cu metodele actuale, revenindu-se aparent la microarhitectura iniţială. Dacă reendotelializarea este defectuoasă, producîndu-se un strat de celule ce este din nou erodat, fiecare nouă descuamare este urmată de un puseu de proliferare a celulelor musculare netede şi de pătrunderea unor mari cantităţi de lipoproteine şi fibrinogen în intima îngroşată. Succesiunea puseurilor de proliferare este reflectată de stratificarea intimei sau a plăcii fibroase, zonele cele mai profunde fiind mai bogate în fibre groase de colagen, în timp ce cele mai superficiale conţin mari cantităţi de ţesut cu aspect mucoid. Raportul dintre rapiditatea reendotelializării, intensitatea proliferării celulelor musculare netede, capacitatea lor de a sintetiza colagen şi de a migra spre zona erodată, determină tipul leziunii şi modul ei de evoluţie. Evoluţia mai este puternic influenţată şi de apariţia proceselor de necroză, evidenţiate cel mai frecvent în zona profundă a intimei, la baza plăcii în curs de dezvoltare. Cu cît zonele de necroză sînt mai întinse, placa fibroasă ia mai curînd aspectul de aterom şi apar condiţiile favorabile ulcerării leziunii. Zonele de necroză reprezintă, în plus teritorii în care lipidele se acumulează în mare cantitate, mărind caracterul obstructiv al leziunii. Un alt factor adiţional care poate influenţa în mod hotărîtor evoluţia leziunii îl reprezintă acumulările de reţele de fibrină direct în placă sau sub forma de microtrombi încorporaţi de pe suprafaţa erodată. Prezenţa acestor microtrombi impune leziunii o evoluţie mai rapidă spre forme stenozante fără a mai trece prin stadii ulcerative. Importante dovezi în acest sens au fost furnizate de grefele de venă safenă implantate în circulaţia coronariană pentru revascularizarea chirurgicală a miocardului. Unele investigaţii menţionează în 73% din aceste grefe prezenţa unor microtrombi încorporaţi în intima venei, din a căror suprapunere şi organizare conjunctivă rezultă plăci fibroase aterosclerotice. Apariţia

Scanned with OKEN Scanner

primilor microtrombi a fost evidențiată la numai 12 ore de la sfîrșitul intervenției chirurgicale. Datorită continuei încorporări de microtrombi, leziunea ia un aspect stratificat și în decurs de numai o lună se poate ajunge la formarea de plăci cu caracter obstructiv (BULKLEY și HUTCHINS 1977). Erodarea endoteliului de neoformație și tromboza intraparietală au fost implicate și în formarea de plăci aterosclerotice în pereții grefelor de material plastic implantate în aortă sau în alte artere mari și mijlocii (WARREN 1965).

C. ROLUL ATEROGEN AL UNOR FACTORI CHIMICI ȘI BIOLOGICI

1. PROCESELE IMUNE

a. DATE INTRODUCTIVE

Importanța acordată proceselor imune în aterogeneză variază în limite foarte largi, de la atribuirea rolului primar, pînă la negarea oricărui rol. S-au menționat agresiuni exercitate de complexele antigen-anticorp asupra endoteliului, cu producerea unor eroziuni de tipul celor apărute sub acțiunea stresului de dragare; aceste agresiuni s-ar mai exercita și asupra celulelor musculare, componentelor fibrilare și substanței fundamentale a arterelor. Procesele imune ar mai acționa ca factori aterogeni și indirect prin potențarea agregării și degranulării trombocitelor, producerea unei stări de hipercoagulabilitate, mărirea valorilor colesterolemiei etc. S-a sugerat participarea unei componente imune în etiopatogenia cardiopatiei ischemice, accidentelor vasculare cerebrale, claudicației intermitente, precum și în apariția aterosclerozei în arterele coronare ale transplantelor de cord, prelevate de la tineri și introduse în organismul unor vîrstnici. Se insistă în mod special asupra prezenței unor complexe imune circulante specifice detectabile la pacienții cu afectare aterosclerotică a arterelor coronare și femurale (FÜST și col. 1978). În lumina datelor de imunologie acumulate pînă în prezent a fost propusă și o teorie a „imuno-aderenței" în ateroscleroză, conform căreia antigeni exo- și endogeni induc formarea plăcilor prin intermediul trombocitelor și a modificărilor metabolice ale celulelor musculare netede din peretele arterial. Dintre acești antigeni, cei mai importanți ar proveni din alimentație, proteina din lapte, de exemplu, fiind capabilă să formeze complexe antigen-anticorp la persoane sensibilizate, inducînd agregarea trombocitelor și apariția de tromboze ce pot fi implicate în histogeneza plăcilor aterosclerotice. Anumiți autori consideră această proteină din lapte ca un factor aterogen important și ca principalul agent cauzal al cardiopatiei ischemice (DAVIES și col. 1969; DAVIES 1971). Se susține că hrănirea artificială a copiilor cu lapte de vacă ar duce la sensibilizări ce ar deveni aterogene. Ulterior s-a mai constatat că și oul ar conține substanțe ce acționează ca antigene și că în general, modul nostru de alimentație constituie o permanentă sursă de formare de complexe antigen-anticorp cu acțiuni aterogene (DAVIES și col. 1974). În acest context este interesantă observația că arterele coronare de la copiii hrăniți cu lapte matern prezintă alterări mai puțin severe decît cei hrăniți artificial (OSBORN 1967).

Scanned with OKEN Scanner

În afara alimentației, implicarea complexelor antigen-anticorp în aterogeneză mai este corelată și cu tabagismul. Pozitivitatea testelor cutanate la proteinele din frunzele de tutun a fost găsită la 52% dintre fumătorii cu cardiopatie ischemică și la numai 14,8% dintre fumătorii fără manifestări clinice de cardiopatie ischemică (HARKAVY 1963). Transferul pasiv al hipersensibilității, inhibiția specifică a transferului prin absorbția cu extract de tutun și eozinofilia, sugerează o hipersensibilitate ce ar putea fi implicată în aterogeneză ca factor de risc independent. La individul sensibilizat sînt probabil necesare cantități extrem de mici din proteina ce acționează ca alergen și este posibil ca această proteină să fie introdusă în circulație prin fumatul zilnic.

Un nou cîmp de investigație asupra rolului aterogen al proceselor imune îl oferă studiul transplantelor de cord; în aceste corduri plăcile ateroscleroticе și alte tipuri de leziuni asociate afectează nu numai arterele mari, ci și vase de diametre mai mici, cum sînt ramurile intramiocardice ale arterelor coronare. Apare astfel o rezistență periferică crescută care devine ea însăși un factor aterogen, capabil să potențeze formarea plăcilor în principalele artere coronare. Menționăm, ca exemplu, cordul unui donator de 24 de ani, transplantat la un pacient de 58 de ani și care, după numai 19 luni, a prezentat numeroase ateroame în arterele coronare, unele cu caracter stenozant (THOMPSON 1969). Apar și leziuni vasculare la distanță de cordul transplantat, leziuni ce au putut fi corelate tot cu procesul respingerii grefei. În plus s-au notat și modificări ale „cascadei" coagulării, sugerînd similarități cu o coagulopatie de consum (BAILLE și col. 1974).

Rolul aterogen al proceselor imune a găsit un vast cîmp de studiu în hiperlipemiile autoimune, mai ales cele asociate cu mieloame; în aceste afecțiuni imunoglobulinele elaborate de celulele tumorale formează complexe cu lipoproteinele circulante. Hiperlipemia autoimună poate fi indusă și prin anticorpi antienzime, ce inhibă activitatea lipolitică a lipoprotein lipazei și a esterazelor cu acțiune hidrolitică. Această inhibiție poate duce la acumulări lipidice în peretele arterial, mai ales în condițiile existenței unei hipercolesterolemii, sau a unei sinteze locale mărite a colesterolului (BEAUMONT și BEAUMONT 1974).

b. ANTIGENE ARTERIALE

Iepurii injectați cu omogenate de aortă și adjuvant Freund au prezentat, în proporție de 73,3%, leziuni ale peretelui arterial cu alterări severe ale limitantelor elastice. Dintre animalele tratate cu alte tipuri de antigen, numai 20,5% au avut modificări similare (SCEBAT și col. 1966 a, b). Adjuvantul Freund mărește severitatea leziunilor, dar nu induce apariția lor.

Modificările peretelui arterial produse de procese imune au un aspect complex, incluzînd procese degenerative, necrozante, proliferative, calcificări, ulcerații. Prezența leziunilor a coincis, la iepurii sensibilizați, cu existența în ser a unor substanțe ce precipitau cu antigenul aortic de șobolan. Reacția de precipitare a apărut specifică pentru peretele aortic, producîndu-se cu o intensitate similară dacă s-au folosit omogenate provenind de la om, cîine sau cal. Paralel cu dezvoltarea leziunilor aortice s-a mai constatat instalarea unei hipertensiuni arteriale și hipercolesterolemii cu creșterea valorilor β-lipoproteinelor; s-au mai notat, de asemenea, hiperglicemii. La șobolani aspectele

Scanned with OKEN Scanner

lezionale au fost similare cu cele de la iepuri, cu o tendință mai marcată spre predominanța proceselor proliferative. Dacă acestor șobolani li se dădea o dietă bogată în colesterol, leziunile prezentau și acumulări lipidice și aspecte de necroză, luînd în parte caracterul de aterom. Lipidele s-au acumulat numai în zonele în prealabil alterate prin acțiunea omogenatului de aortă; aceasta ar sugera că procesele imune ar pregăti „patul" adecvat formării ateroamelor.

Un studiu asupra antigenelor intimei normale și aterosclerotice a demonstrat că un component termolabil cu mobilitate electroforetică rapidă, prezent în arterele aparent normale, își reduce mult concentrația cînd se dezvoltă plăcile aterosclerotice. Pe de altă parte în aceste plăci apar antigeni noi, absenți în intima normală (INTROP și col. 1969).

Cercetările asupra anticorpilor antielastină au dus la elaborarea unei teorii a aterogenezei bazată pe mecanisme autoimune (ROBERT L. și col. 1970). Etapele acestui proces aterogen, ar include inițial o degradare a structurilor elastice din peretele arterial. Această degradare pare a fi efectuată de enzime de tipul elastazei, eliberate din lizozomii celulelor musculare netede și din trombocitele agregate. Din fibrele elastice alterate se desprind peptide solubile care trec în circulație unde acționează ca antigeni; iau naștere anticorpi antielastină ce sînt apoi în mod electiv reținuți de fibrele elastice alterate, rezultînd accelerarea și accentuarea proceselor degradative. Apar noi peptide solubile ce acționează ca antigeni, noi complexe antigen-anticorp, noi acțiuni distructive la nivelul peretelui arterial și leziunea se extinde și se autoîntreține, agravîndu-și treptat evoluția. Prezența anticorpilor circulanți antielastină a fost demonstrată atît în serul subiecților normali, cît și a celor cu manifestări clinice de ateroscleroză (STEIN și col. 1965). Experimental, fracția macromoleculei de elastină obținută prin hidroliză cu hidroxid de potasiu s-a dovedit antigenică la iepure (ROBERT și POULLAIN 1963). Analiza elastinei supusă digestiei cu elastază a arătat că cea mai mare antigenicitate aparține fracției conținînd 50% lipide, 7% glucide și numeroși aminoacizi polari; în schimb fracția bogată în aminoacizi apolari s-a dovedit lipsită de antigenicitate (KELLER și col. 1969). S-a mai constatat că pentru a se elibera peptide solubile cu proprietăți antigenice, nu este absolut necesară acțiunea elastazei asupra fibrelor elastice din artere, fiind suficiente efectele alterative induse de catepsine și chemotripsine. Mai trebuie menționat că în cursul acestei degradări, în afară de peptide solubile, se mai eliberează glicoproteine structurale și alte complexe glucido-protidice intrafibrilare cu potențialități antigenice (ROBERT B. și ROBERT 1969). Nivelul anticorpilor a fost mai mare folosind extractul de aortă obținut după tratare cu clorură de calciu 1 *M* tamponat la pH 8, decît folosind extractul obținut după tratare cu uree; aceasta ar indica posibilitatea ca valoarea rezultatelor să fie semnificativ influențată de metodologia de extracție. Mai menționăm observația absenței reacțiilor celulare la nivelul leziunii produsă de anticorpii antielastină, animalele sensibilizate prezentînd fenomene de hipersensibilitate întîrziată, ceea ce ar sugera neimplicarea celulelor imunocompetente în histogeneza leziunilor (ROBERT A. M. și col. 1971). Degradarea țesutului elastic, fibroza intimei, calcificarea, proliferarea nodulară a celulelor musculare netede, apariția centrilor necrotici, deosebesc morfologic leziunea produsă prin reacții imune de aceea obținută prin diete bogate în colesterol, în care predomină acumularea lipidică.

Scanned with OKEN Scanner

c. ARTERIOPATII PRIN IMUNIZARE

Agresiunile de tip imun asupra peretelui arterial pot fi produse prin procedee variate, cel mai des folosindu-se injectarea de proteine străine. Apar proliferări nodulare ale intimei, iar asocierea unor diete bogate în colesterol dă acestor leziuni aspect de placă fibro-lipidică. Astfel de leziuni pot fi obținute la iepure dacă se injectează 10 ml ser de cal pe kg greutate corporală la interval de 18 zile, administrînd concomitent și o dietă bogată în colesterol care să ridice valorile colesterolemiei la cel puțin 700 mg/100 ml. Prin acest procedeu se formează la iepure leziuni similare celor din ateroscleroza umană nu numai în aortă, ci și în arterele coronare (*fig. 74*). Leziunile din arterele coronare nu apar după administrarea prelungită de diete bogate în colesterol, indiferent de valorile colesterolemiei; ele nu apar, de asemenea, după simpla administrare de ser de cal, dar pot fi obținute dacă dieta aterogenă și serul de cal acționează concomitent (MINICK și MURPHY 1974). Dacă se reduce cantitatea de colesterol din dietă după apariția leziunilor, evoluția acestor leziuni spre forme severe, obstructive, nu este întîrziată, sugerînd că agresiunea produsă de reacțiile imune reprezintă elementul aterogen dominant. Rezultatele acestui experiment indică importanța sinergismului dintre agresiunea

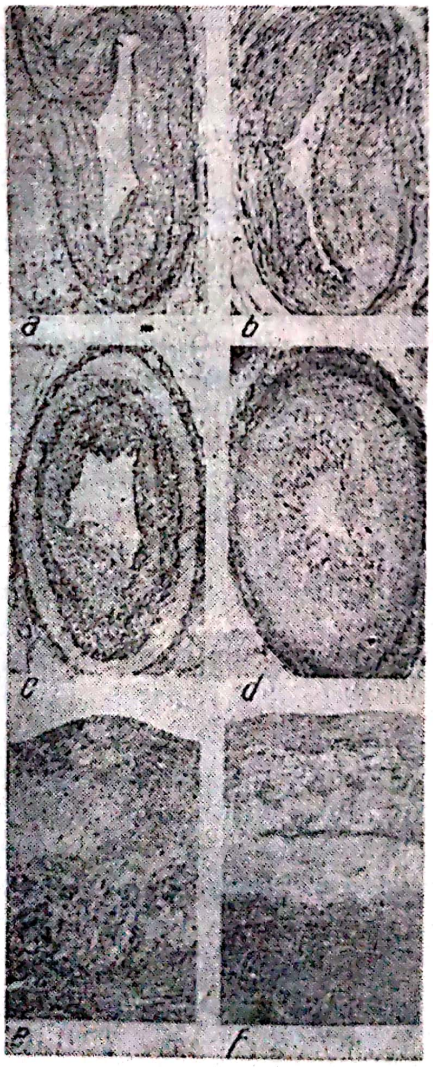


Fig. 74 Arteriopatie de tip aterosclerotic, obținută prin procese de imunizare. a) Placă aterosclerotică produsă în artera coronară de iepure prin injectare repetată de proteină străină și hrănirea animalului cu dietă semisintetică, săracă în colesterol. b) Placă aterosclerotică produsă în artera coronară de iepure, cu prezența de cristale de colesterol în leziune, apărute după tratare ca la a), timp de 16 luni. c, d) Leziuni similare celor din ateroscleroză, obținute în artera mezenterică de iepure, după 2 luni de tratare cu ser de cal și 80 de zile de dietă bogată în colesterol. e) Ateroscleroza aortei obținută în decurs de 15 luni, prin 12 injecții de proteină străină și dietă săracă în colesterol. f) Pentru comparație cu imaginea din e), aspectul unei plăci aterosclerotice din aorta unui bărbat de 62 de ani (după MINICK 1974, cu permisiunea editurii Springer, Berlin — New York).

Scanned with OKEN Scanner

imună și hipercolesterolemie în histogeneza leziunilor. Tot din rezultatele acestui experiment se mai poate deduce că preexistența unor agresiuni de tip imun poate favoriza acumulări lipidice în leziuni și la niveluri mai puțin ridicate ale colesterolemiei, de tipul celor considerate la om la limita superioară a normalului. În sfîrșit se mai poate constata că asocierea agresiunii imune cu hipercolesterolemia reduce considerabil timpul apariției leziunilor; acest timp este de numai jumătate din cel necesar formării acestor leziuni la iepurii hrăniți doar cu dieta bogată în colesterol (LEVY 1967). La maimuțe, dieta bogată în colesterol induce apariția de leziuni în aproximativ doi ani; injectarea de albumină din ser de bou reduce acest timp la numai șase luni (HOWARD și col. 1971).

Modul în care agresiunile de tip imun grăbesc apariția leziunilor și evoluția lor este doar în parte cunoscut. Se susține că sub efectul reacțiilor antigen-anticorp s-ar produce o creștere a permeabilității endoteliale, iar anumite complexe antigen-anticorp ar fi capabile să altereze endoteliul și să apară eroziuni punîndu-se astfel în mișcare mecanismul complex de reacții ce poate avea ca rezultat final formarea plăcii aterosclerotice. Alterările endoteliale au apărut foarte evidente la nivelul unor vase transplantate, precum și în unele artere situate la distanță de transplant (LINDQVIST și OSTERLAND 1971). S-a sugerat că în astfel de condiții, leziunile endoteliului ar rezulta din interacțiunea dintre determinanții antigenici ai endoteliului vaselor donatorului și celulele imunocompetente ale primitorului, precum și cu anticorpii primitorului. *In vitro*, s-a obținut o alterare severă a celulelor endoteliale prin aloantiser și xenoantiser citotoxic în prezența complementului de iepure. S-a mai constatat că celulele endoteliale de om sînt capabile să stimuleze limfocite alogene spre blastogeneză și sinteză de ADN, sugerînd capacitatea endoteliului de a iniția direct un răspuns imunoproliferator. Celulele endoteliale au mai putut fi alterate și prin limfocite alogene neimune în prezența de anticorpi anti-HL-A (HIRSCHBERG și col. 1975). Un rol major în alterarea endoteliului a fost atribuit și complementului. Acesta se găsește în stare inactivă în sînge și este activat fie specific, prin reacții antigen-anticorp, fie nespecific, de către enzime, agregate macromoleculare, lipoproteine etc. Un anumit rol în activarea nespecifică pare a fi jucat și de stresurile hemodinamice, mai ales de fluxul turbulent. Prin acest mecanism s-ar putea explica activarea complementului în zone de „predilecție", cum ar fi bifurcațiile și emergențele unde alterarea endoteliului atinge frecvența și severitatea cea mai mare. După fixare nespecifică pe globuline sau lipoproteine, complementul „atacă" celulele endoteliale, mărind considerabil permeabilitatea peretelui vascular (GEERTINGER și SØRENSEN 1973). În legătură cu stresul hemodinamic este important de menționat că în endoteliul normal sinteza histidin-decarboxilazei este de aproximativ 1,5 ori mai mare decît în zona subendotelială. Dacă endoteliul este supus unui stres de dragare ce acționează cu o intensitate de numai 27 dine/cm^2, sinteza crește de aproximativ cinci ori (HOLLIS și FERRONE 1974). Dacă acțiunii stresului hemodinamic i se adaugă și o agresiune prin procese imune, sinteza se mărește și mai mult, devenind disponibilă o mare cantitate de histidin-decarboxilază care să medieze răspunsuri de tip inflamator întîrziat. Secreția de amine vasoactive reprezintă un factor important de potențare a pătrunderii componentelor plasmatice în grosimea intimei ca urmare a creșterii permeabilității endoteliale. Această creștere ar putea fi

Scanned with OKEN Scanner

contracarată de antihistaminice, explicîndu-se astfel, cel puţin în parte, efectele antiaterogene obţinute în numeroase condiţii experimentale.

2. MUTAŢIILE

Implicarea mutaţiilor în aterogeneză stă la baza teoriei originei monoclonale a plăcilor aterosclerotice (BENDITT şi BENDITT 1973; BENDITT 1974, 1976, 1977). Această teorie tinde să revoluţioneze concepţiile mai vechi şi actuale asupra etiopatogeniei bolii, schimbînd centrul problematicii etiopatogeniei de la hiperplazie la neoplazie celulară. Conform acestei teorii, placa aterosclerotică este rezultatul unor mutaţii care apar în celulele musculare netede din peretele arterial, rezultînd proliferări de tip tumoral benign similare leiomioamelor uterine.

Punctul de plecare al teoriei originii monoclonale a plăcilor fibroase l-au constituit observaţiile asupra aortei de pui de găină; cercetîndu-se modul cum se dezvoltă leziunile spontane de ateroscleroză, s-a observat că apariţia plăcilor fibroase este precedată de acumularea în intimă a unui mic număr de celule migrate din media vasului. Aceste celule încep să prolifereze intens, rezultînd formaţiuni nodulare de tipul mioamelor, lipsite de conţinut lipidic. Elementele care produc plăcile fibroase au un aspect microscopic şi electronomicroscopic diferit de cele care produc îngroşarea intimei. Diferenţele constau în diametrele mai mici ale nucleului şi citoplasmei, absenţa joncţiunilor intercelulare, o capacitate de sinteză mai limitată, orientată predominant spre producerea de mucopolizaharide acide şi colagen. Dacă agresiunile asupra aortei erau produse de factori neaterogeni, reacţia reparatoare lua aspectul îngroşărilor intimale; dacă agresiunile asupra aortei erau produse de factori aterogeni, reacţia reparatoare devenea aberantă, fiind incitată proliferarea nodulară a anumitor celule migrate din medie. Observaţia existenţei a două tipuri de celule, unele implicate în procesele de remodelare şi reparare, altele implicate în formarea leziunilor de ateroscleroză, a sugerat existenţa, în peretele arterial, a unor clone diferite de celule musculare netede. Ipoteza de demonstrat era originea policlonală a celulelor ce produc îngroşarea intimei şi originea monoclonală a elementelor care produc plăcile fibroase. Metodele utilizate au fost luate din arsenalul geneticii tumorilor benigne, în special cele apărute în miometru prin proliferările nodulare ale celulelor musculare. S-a considerat că existenţa unei singure izoenzime a glucozo-6-fosfat dehidrogenazei ar reprezenta un argument că respectivele celule se dezvoltă monoclonal; dacă apar ambele izoenzime, originea celulelor ar fi policlonală. Extractele de aortă de om, cu şi fără plăci fibroase, au fost analizate electroforetic şi rezultatele primelor investigaţii, incluzînd 15 plăci aterosclerotice au demonstrat în 12 dintre leziuni existenţa unui singur tip de izoenzimă. Din 27 de fragmente de aortă doar cu intima îngroşată 25 au prezentat ambele tipuri de glucozo-6-fosfat-dehidrogenază (BENDITT şi BENDITT 1973). Investigaţii ulterioare, pe un material mult mai bogat, au dus la rezultate similare: plăcile fibroase au o origine monoclonală, dezvoltîndu-se după tipul tumorilor benigne ale celulelor musculare netede (BENDITT 1974, 1976, 1977). Alţi cercetători, încercînd să verifice aceste prime rezultate, au evidenţiat în aorta de om o proporţie de 89% dintre celulele plăcilor ca avînd origine monoclo-

Scanned with OKEN Scanner

nală, în timp ce în intimele îngroşate, fără leziuni, proporţia era de numai 1,5% (PEARSON şi col. 1975 a, b). În sprijinul originii monoclonale a plăcilor sub aspectul unei tumori benigne pledează şi observaţia că nu s-a putut detecta eliberare de ADN din peretele arterial fără leziuni, în timp ce peretele arterial cu plăci a eliberat 10—100 ng ADN/ml/24 ore, eliberări similare fiind obţinute şi din alte tumori benigne (ROUNDS şi col. 1976). Deşi multe lucrări au confirmat originea monoclonală a plăcilor aterosclerotice, interpretarea rezultatelor este încă un subiect controversat. Astfel se menţionează că prezenţa unei singure enzime în toate celulele dintr-o placă nu constituie o dovadă absolută a originii lor monoclonale; leziunea ar putea fi produsă prin proliferarea unor celule de origine policlonală care să ajungă mai repede la degradare şi necroze în comparaţie cu cele de origine monoclonală care rămîn în final dominante. Episoade repetate de proliferări şi distrugeri celulare, aşa cum apar în cursul dezvoltării plăcilor fibroase, ar putea duce la izolarea unor specii cu un fenotip aparte, deşi s-a plecat de la o origine multiclonală (ROSS şi GLOMSET 1976).

Conform teoriei lui BENDITT, originea monoclonală a plăcilor aterosclerotice ar avea ca punct de plecare o *mutaţie*. Această mutaţie ar rezulta dintr-o „alterare" a aparatului genetic al anumitor celule musculare netede din media sau intima arterelor. După ce mutaţia s-a produs, celula intră în faza de stare neoplazică subliminară, rămînînd pe perioade mai scurte sau mai lungi de timp sub pragul de excitaţie care induce proliferarea nodulară. Această perioadă poate varia de la zile la luni, ani, sau zeci de ani. Pentru a da naştere proliferării tumorale de tip benign este necesară nu numai mutaţia, ci şi intervenţia unui adjuvant care să stimuleze celula să se multiplice. În acest sens ar putea acţiona stresurile hemodinamice intensificate, descărcările masive de catecolamine, anumiţi produşi toxici de metabolism, dezechilibre endocrine profunde, reacţii antigen-anticorp de mare intensitate sau de lungă durată, anumite carenţe alimentare etc. Mutaţia nu poate duce la formarea de plăci decît prin intermediul acestor factori care incită multiplicarea. Celulele care rezultă din elementul cu aparatul genetic modificat de mutaţie sînt de acelaşi tip cu celula mamă, prezentînd ca principală particularitate metabolică capacitatea de a sintetiza colagen şi mucopolizaharide acide, în timp ce sinteza de elastină este mult diminuată în comparaţie cu celulele ce produc îngroşarea intimei. Colagenul sintetizat de celulele de tip tumoral este similar cu cel ce predomină în os şi piele (tipul I) şi nu cu cel ce predomină în intima îngroşată (tipul III). S-a mai sugerat că aceste celule de origine monoclonală ar avea şi o deficienţă în esteraze acide cu capacităţi hidrolitice, favorizînd astfel acumulările de esteri de colesterol în lizozomii respectivelor celule (GATON şi WOLMAN 1977).

În lumina teoriei originii monoclonale a plăcilor aterosclerotice sînt consideraţi agenţi aterogeni toate condiţiile şi toţi factorii care produc mutaţii ale celulelor musculare netede din peretele arterial sau care favorizează apariţia acestor mutaţii. În acest sens sînt de luat în discuţie, pe lîngă patrimoniul genetic al fiecărui individ, influenţele exercitate de mediu. Sîngele vehiculează substanţe provenite din alimentaţie, precum şi virusuri sau/şi produşi de metabolism cu acţiune mutagenă, iar organismul este uneori supus iradiaţiilor. Dintre substanţele chimice, pe primul plan al atenţiei ar fi cele conţinute în fumul de tutun, în special benzpirenul şi metilcolantrenul. Cu ajutorul electro-

Scanned with OKEN Scanner

forezei s-a putut demonstra că aceste substanţe sînt vehiculate de lipoproteine, în special cele din clasa β, respectiv de aceleaşi macromolecule ce transportă în peretele arterial şi colesterolul. S-a constatat că la o concentraţie mai mare a lipoproteinelor în sînge se transportă şi mai multe hidrocarburi cancerigene în intima arterelor (BENDITT 1977). Enzime de tipul hidroxilazelor convertesc în peretele arterial, substanţele premutagene în mutagene, aşa cum s-a demonstrat la om, maimuţe şi iepuri de casă. În sprijinul ipotezei menţionate ar pleda constatarea că administrarea de benzpiren şi dimetilbenzantracen produce o creştere considerabilă a numărului de plăci fibroase apărute în mod spontan în aortă, ritmul dezvoltării leziunilor fiind mult mai rapid decît în condiţiile neadministrării acestor substanţe (BENDITT 1977). Ar mai putea acţiona ca substanţe mutagene anumiţi derivaţi apoxizici ai colesterolului, capabili să producă la şobolani şi şoareci, tumori ale ţesutului conjunctiv. Hipertensiunea arterială constituie un factor care măreşte susceptibilitatea la mutaţii a celulelor musculare din peretele arterial ca şi din alte ţesuturi şi organe, fiind bine cunoscută incidenţa mai mare a tuturor tipurilor de tumori la hipertensivi, în comparaţie cu normotensivii de vîrste similare. Dintre hormoni, dietilstilbestrolul favorizează proliferări tumorale benigne la şoarece prin acţiuni directe sau/şi prin implicarea unor virusuri latente.

Teoria originii monoclonale a plăcilor aterosclerotice nu neagă plurietiologia bolii, dar limitează mecanismul apariţiei leziunilor la mutaţii urmate de proliferări tumorale benigne ale celulelor musculare netede. Această teorie nu exclude existenţa şi a unor factori trombocitari care stimulează proliferarea celulelor din intimă (ROSS şi col. 1974), sau a unor factori vehiculaţi de β-lipoproteine sau incluşi în structura chimică a acestor macromolecule, după cum nu exclude nici efectul aterogen al stresurilor hemodinamice. Teoria originii monoclonale împarte agresiunile ce se produc asupra endoteliului şi peretelui arterial în *apte şi inapte a da naştere la mutaţii*. Cele care induc mutaţiile sînt aterogene, din procesele reparatoare rezultînd plăcile aterosclerotice; cele care nu induc mutaţiile nu sînt aterogene, din procesele reparatoare rezultînd doar îngroşări intimale.

3. DEREGLĂRI ALE ACTIVITĂŢILOR ENZIMATICE

Caracterul aterogen al acestor dereglări a fost prezentat în capitolele III şi IV. În cursul ultimilor ani se pune un accent deosebit pe modificările raportului dintre enzimele cu acţiune de sintetaze şi cele cu acţiune de hidrolaze existente în lizozomii celulelor musculare netede. Modificarea acestui raport în sensul diminuării hidrolizei, cu favorizarea acumulărilor de esteri de colesterol în lizozomi este considerat un mecanism cheie în patogenia aterosclerozei şi implicit în histogeneza plăcilor aterosclerotice (WOLINSKY 1976 a, b). Toţi factorii care produc o creştere a permeabilităţii endoteliale şi măresc rata de pătrundere a componentelor plasmatice în intima arterelor stimulează activitatea hidrolazelor lizozomale, în acest sens acţionînd şi hipercolesterolemiile experimentale (PETERS şi DeDUVE 1974) şi hipertensiunea arterială experimentală (WOLINSKY şi col. 1973). Aceasta din urmă produce o creştere de peste două ori a activităţii fosfatazei acide şi de peste trei ori a β-N-acetil-glucozaminidazei. În *fig. 75* se poate constata că în

Scanned with OKEN Scanner

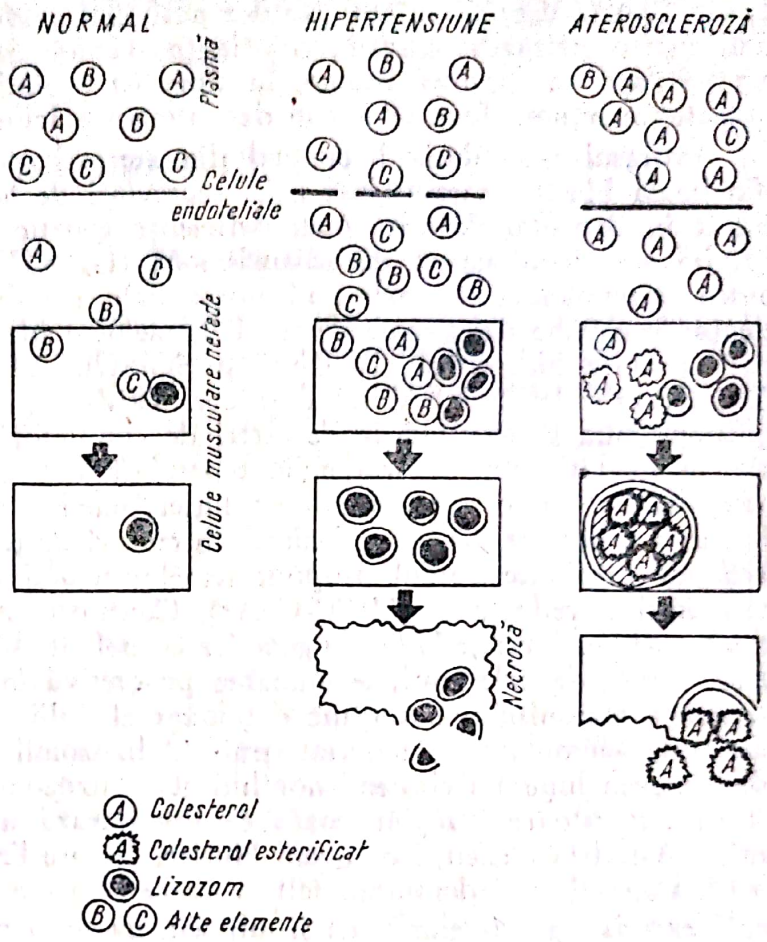


Fig. 75 Implicarea lizozomilor celulelor musculare netede din peretele arterial în metabolizarea β-lipoproteinelor la subiecți normali, la pacienți cu hipertensiune arterială și la pacienți cu afectare severă prin plăci aterosclerotice. Se poate constata reținerea preferențială a esterilor de colesterol în celulele musculare netede din peretele arterei cu leziuni de ateroscleroză (după WOLINSKY 1976 b, cu permisiunea editurii The New York Academy of Science, New York).

hipertensiunea arterială afluxul de componente plasmatice induce o creștere a diametrelor și numărului lizozomilor, asociată cu o potențare a activității tuturor tipurilor de hidrolaze, cu excepția celor ce degradează esterii de colesterol și care sînt parțial inhibate. Astfel hipertensiunea arterială pregătește terenul pentru acumulări intralizozomale de esteri de colesterol în cazul unui aflux mărit de β -lipoproteine în peretele arterial. Efecte aterogene similare poate exercita ori ce altă condiție în care, prin creșterea permeabilității endoteliale este mărit afluxul de componente plasmatice spre celulele musculare din intima arterelor, se produce o potențare a hidrolazelor lizozomale și o inhibare a esterazelor cu acțiune hidrolitică. În momentul în care apare o hipercolesterolemiei cu hiper-β-lipoproteinemie, esterii de colesterol se acumulează rapid în lizozomi, așa cum poate fi demonstrat după administrare prelungită de diete bogate în colesterol. Această acumulare electivă a esterilor în lizozomi a fost demonstrată fie în fracția lizozomală izolată (PETERS și col. 1972), fie în celulele rămase în peretele arterial al animalelor supuse dietei aterogene (SHIO și col. 1971). Unii dintre acești lizozomi sînt asociați cu vacuole de autofagie ce pot deveni predominante, ducînd la degradarea celulei. Creșterea numărului acestor lizozomi încărcați cu lipide duce la aspectul de element cu protoplasmă spumoasă. În ateroscleroza experimentală secvestrarea lipidelor în lizozomi pare a fi un proces ce apare foarte rapid, înaintea dezvoltării leziunilor (GOLDFISCHER și col. 1975 a, b). Se menționează că și

Scanned with OKEN Scanner

la om această depozitare este precoce putînd fi evidenţiată la copiii de 10—11 ani, într-o perioadă cînd intima îngroşată nu conţine leziuni. Se atribuie acestei faze un caracter benign, în timp ce evoluţia spre leziunea cu centru necrotic ar anunţa faza severă în dezvoltarea plăcilor (WOLINKY 1976 a, b).

Procesul acumulativ lizozomal din ateroscleroză a fost asemănat cu cel din boala Hurler, caracterizat prin acumulări de heparan-sulfat şi dermatan-sulfat în lizozomi datorită unei deficienţe genetic transmise în L-iduronază. Privită sub acest aspect de tezaurismoză (DeDUVE 1974). ateroscleroza ar putea fi asemănată cu unele boli autozomale, recesive, caracterizate prin deficienţă de enzime lizozomale de tipul lipazelor acide şi în special al esterazelor cu activitate hidrolitică (BURKE şi SCHUBERT 1972; SLOAN şi FREDRICKSON 1972; BEAUDET şi col. 1977). În aceste boli hepatomegalia, splenomegalia şi acumulările de esteri de colesterol în numeroase organe, mai ales în ficat şi corticosuprarenală, reprezintă tabloul anatomopatologic dominant, asociat cu o potenţare a evoluţiei plăcilor aterosclerotice. Fibroblaştii din dermul acestor pacienţi prezintă, în culturi de ţesuturi, o blocare a reglării *feedback* prin intermediul β-lipoproteinelor a activităţii hidroximetil-glutaril-coenzimei A-reductazei (HGM-CoAr). Conform concepţiei menţionate, atît în ateroscleroză, cît şi în bolile genetice cu deficit de enzime capabile să hidrolizeze esterii de colesterol, acumularea progresivă în lizozomi a acestor lipide constituie mecanismul patogenic dominant al bolii. În plus, s-a mai constatat că simpla acumulare de material străin în lizozomii celulelor musculare netede induce, prin hiperactivitatea unor hidrolaze lizozomale, procese de necroză şi reacţii reparatoare compensatoare ce favorizează apariţia plăcilor aterosclerotice. Astfel la pacienţii cu boală Hurler, la care lizozomii sînt supraîncărcaţi cu heparan sulfat şi dermatan sulfat, apare încă din copilărie o îngroşare intimală excesivă a arterelor mari şi mijlocii, mergînd pînă la aspecte obstructive (GOLDFISCHER şi col. 1975 b). Această îngroşare intimală reprezintă un stadiu prelezional, întrucît în anumite zone plăcile se dezvoltă foarte rapid şi au o evoluţie severă.

Dacă în boli genetice prin deficit de L-iduronază sau de lipaze acide lizozomale defectul enzimatic este clar evidenţiabil şi patogenia respectivelor boli bine înţeleasă, în ateroscleroză comparaţiile sînt încă forţate, nesusţinute de o documentaţie ştiinţifică adecvată. În plus, anumite deficienţe de ordin genetic ce s-ar transmite la subiecţii ce se nasc cu suceptibilitate mai mare la apariţia şi evoluţia severă a leziunilor sînt estompate de variaţi factori ce potenţează sau inhibă activitatea esterazelor. Astfel, prostaglandina E_2 (PGE_2) produce o inhibare a activităţii hidrolitice dependentă de doza administrată, în timp ce alte prostaglandine par a avea un efect stimulant, participînd astfel la reglarea raportului sinteză /hidroliză a esterilor de colesterol (BERBERIAN şi col. 1977). Diabetul se asociază cu o inhibare a activităţii majorităţii hidrolazelor lizozomale, favorizînd acumularea în lizozomi nu numai a esterilor de colesterol, ci a tuturor substratelor ce rămîn nedegradate. Acţiunea inhibantă a diabetului este atît de puternică, încît elimină total stimularea lizozomală apărută după instalarea unei hipertensiuni arteriale (WOLINSKY şi col. 1978). În concluzie ipoteza considerării aterosclerozei ca o tezaurismoză prin esteri de colesterol are un anumit suport experimental, dar extrapolarea în patologia umană este bazată doar pe analogii.

Scanned with OKEN Scanner

D. MODIFICĂRI ALE PERETELUI ARTERIAL CONSIDERATE PRECURSORII PLĂCILOR ATEROSCLEROTICE

1. STRIURILE LIPIDICE

a. DATE CU CARACTER GENERAL

Denumirea de striu lipidic este folosită spre a desemna acumulări subendoteliale de celule spumoase încărcate cu lipide apărînd macroscopic ca o pată gălbuie cu diametrul de 2—3 mm. În anumite teritorii arteriale, cum ar fi artera femurală, apariţia striurilor este precedată de formarea unor aglomerări punctiforme (puncte sudanofile), cu diametrul de numai 0,1—0,5 mm, vizibile doar cu lupa. Punctele sudanofile confluează în pete sudanofile cu diametrul de 1—2 mm din a căror coalescenţă rezultă striurile (MARTINAZZI şi col. 1968 a). În *tabelul XVII* prezentăm relaţia dintre aspectele macroscopice, microscopice şi histochimice ale acestor mici acumulări lipidice.

În aorta de om primele striuri lipidice au fost evidenţiate la o lună de la naştere, iar la vîrsta de un an sînt prezente la toţi copiii (SCHWARTZ şi col. 1967). Subliniem că vizualizarea lor necesită tratarea vasului cu o soluţie suprasaturată de sudan IV în izopropanol 38% şi folosirea lupei. Mai precizăm că este necesar ca aceste prime striuri să fie căutate în zone de elecţie: în primele luni şi chiar în primii ani de la naştere pot fi mai bine vizualizate deasupra valvulelor semilunare, la nivelul cicatricei canalului arterial şi pe linia mediană a crosei. Devin vizibile în segmentul toracic al aortei după vîrsta de trei ani, mai ales pe peretele posterior şi mai tîrziu îşi fac apariţia şi în aorta abdominală. Această secvenţă a apariţiei striurilor lipidice în aortă nu concordă cu aceea a plăcilor care se dezvoltă mai întîi în aorta abdominală, apoi în segmentul toracic şi lasă cel mai frecvent neafectate crosa şi regiunea valvulelor semilunare. Mai menţionăm că atît în segmentul abdominal, cît şi în cel toracic, striurile lipidice se opresc în vecinătatea punctelor de emergenţă, pe cînd plăcile se localizează predominant în aceste puncte.

TABELUL XVII

Relaţia dintre particularităţile macroscopice, microscopice şi histochimice ale „leziunilor" incipiente de ateroscleroză din artera femurală de om (după MARTINAZZI, CAPELLA şi CARNEVALI 1968 a, cu permisiunea editurii Associated Scientific Publishers-Elsevier, Amsterdam)

	Aspect macroscopic	*Particularităţi histologice şi histochimice*
I	Puncte mici sudanofile (diametru 0,1—0,3 mm)	Incrustaţii cu fosfolipide pe limitanta elastică internă şi pe fibrele elastice de neoformaţie
II	Pete turtite, rotunde, sudanofile (diametru 1—2 mm)	Acumulări interstiţiale de fosfolipide între fibre elastice neoformate şi celule musculare ale intimei
III	Pete mari, cu margini neregulate intens sudanofile	Celule încărcate cu fosfolipide şi acumulări interstiţiale de fosfolipide cu tendinţă la creştere, asociate cu fragmentarea limitantei şi fibrelor elastice
IV	Pete mari, proeminente, detectabile şi fără coloraţia cu Sudan	Apariţia de colesterol şi de celule cu cristale de colesterol şi vacuole lipidice (celule spumoase), acumulări interstiţiale de colesterol, adesea asociate cu acumulările de fosfolipide cu dispoziţie perifibrilară.

Scanned with OKEN Scanner

Striurile lipidice din aortă cresc progresiv ca număr şi diametru în tot cursul copilăriei şi ating dezvoltarea maximă în perioada adolescenţei. În studiul „International Atherosclerosis Project" s-au evidenţiat două vîrfuri în incidenţa striurilor lipidice, primul între 10—14 ani, al doilea între 20—24 ani (McGILL 1968). În artera carotidă dezvoltarea striurilor lipdiice este similară cu cea din aortă, în timp ce în arterele coronare primele striuri apar în cursul adolescenţei, cu aproximativ 15 ani în urma celor din aortă.

Dezvoltarea striurilor lipidice în aortă are un caracter universal, fără corelaţii cu zona geografică, nivelul de industrializare, tipul alimentaţiei, rasa, sexul etc. Aceste striuri apar ca un component „normal" al aortei de copil şi de aceea anumiţi autori ezită să le denumească „leziune". La unele grupe de negri din Statele Unite, striurile lipidice se dezvoltă mai frecvent în cursul copilăriei decît la albii de vîrste similare; la adulţi însă incidenţa cardiopatiei ischemice şi a plăcilor aterosclerotice este mult mai mare la albi decît la negri. În numeroase studii în care se compară ţări şi grupe de populaţii cu incidenţă ridicată sau coborîtă a cardiopatiei ischemice, se constată o dezvoltare mai abundentă a striurilor lipidice în aorta grupelor mai puţin afectate de manifestările clinice ale aterosclerozei. Aceste rezultate ar indica fie lipsa unor legături histogenetice între striuri şi plăci, fie lipsa unor factori capabili să inducă transformarea striurilor în plăci (MÉNDEZ şi TEJADA 1969 b). Femeile, deşi sînt de 4—7 ori mai puţin susceptibile decît bărbaţii de a face cardiopatie ischemică pînă la vîrsta de aproximativ 60 de ani, au mai multe striuri lipidice în aortă în cursul copilăriei decît subiecţii de sex masculin, incidenţă crescută ce se menţine pînă către vîrsta de 40 de ani (EGGEN şi SOLBERG 1968). Această diferenţă legată de sex este semnificativă doar la populaţii din rasa albă, neexistînd la negri din Statele Unite sau din Africa. O observaţie interesantă este şi constatarea prezenţei striurilor lipidice la copiii din ţările subdezvoltate morţi de inaniţie imediat după naştere.

b. CONVERSIUNEA STRIURILOR IN PLĂCI

VIRCHOW (1856) a descris striurile şi plăcile lipidice ca două entităţi separate, avînd histogeneză diferită. Acest punct de vedere a fost ignorat odată cu larga folosire a modelului ANICIKOV care permite să se obţină depuneri lipidice cu aspect de striuri, iar din continua acumulare lipidică rezultă leziuni care au fost asemănate plăcilor. Ulterior s-a demonstrat că anumite similitudini sînt doar aparente, striurile din aorta iepurelui ţinut la dietă bogată în colesterol şi cele din aorta de om avînd o origine diferită. În ateroscleroza experimentală striurile provin din secvestrarea în peretele arterial a macrofagelor încărcate cu lipide în sînge sau în diferite teritorii ale sistemului reticulo-endotelial. S-au folosit metode foarte variate spre a demonstra această histogeneză particulară, rezultatele cele mai demonstrative fiind obţinute după folosirea radioizotopilor. Astfel, mononuclearele sanguine ale unui iepure donator, marcate cu timidină, se regăsesc în striurile lipidice ale unui iepure primitor supus la dietă bogată în colesterol (SPRARAGEN şi col. 1969). În striurile lipidice de la om celulele spumoase provin din încărcarea cu vacuole lipidice a elementelor musculare netede din intima arterei. În aceste vacuole, provenite în cea mai mare parte din lizozomi, colesterolul este esterificat cu acid oleic sintetizat *in situ*, oleatul de colesterol devenind componentul lipidic dominant al striurilor. Sub acest aspect, striurile lipidice de la om au un conţinut similar de esteri de colesterol cu celulele din corticosuprarenală sau cu

Scanned with OKEN Scanner

celulele din glanda interstiţială genitală. În glandele endocrine ce sintetizează hormoni steroidici există, în vacuolele lipidice, o cantitate de acid oleic (18:1) de peste patru ori mai mare decît cea a acidului linoleic (18:2), proporţie similară cu cea din striurile lipidice ale aortei (vezi tabelul XIII). Dimpotrivă, în β-lipoproteine cantitatea de acid linoleic este de aproape două ori mai mare decît cea de acid oleic. În plus, creşterea de aproximativ patru ori a cantităţii de acid eicosatrienoic (20:3) în glandele menţionate şi în striurile lipidice în comparaţie cu valorile din plasmă, au întărit afirmaţia că ne găsim în prezenţa unor procese de sinteză şi nu de acumulare (SMITH şi col. 1967, 1968; SMITH şi SLATER 1973; SMITH şi SMITH 1976). Similitudinea compoziţiei chimice a conţinutului lipidic din striuri cu lipidele din corticosuprarenală şi celulele glandelor interstiţiale genitale, apariţia striurilor mai ales în perioada pubertăţii, involuţia lor parţială după ce pubertatea a trecut, a făcut pe unii cercetători să se întrebe dacă nu ne găsim în prezenţa unor glande accesorii şi nu a unor leziuni aterosclerotice. Acest punct de vedere nu şi-a găsit încă o fundamentare ştiinţifică adecvată şi în consecinţă problema conversiunii posibile a striurilor în plăci continuă să fie larg discutată.

Datele de patologie umană sînt greu de interpretat din cauza caracterului lor static, fragmentar, în cîteva aspecte microscopice fiind incluse transformări ce pot dura mai mulţi ani. Un striu lipidic apărut în aorta unui copil de 1 an poate fi stadiul iniţial al unei plăci ce se va dezvolta după vîrsta de 30 de ani, poate involua după pubertate, sau poate rămîne toată viaţa sub acelaşi aspect. Aceste evoluţii diferite nu pot fi deduse din examenul macro- sau microscopic al striului şi nici din examenul chimic al conţinutului lipidic. În studiul „International Atherosclerosis Project" în care au fost studiate striurile lipidice din peste 23 000 aorte, artere coronare şi artere cerebrale, se menţionează că în aortă şi artera carotidă aceste striuri au un caracter ubicvitar şi nu prezintă nici o semnificaţie pentru dezvoltarea plăcilor. De aceea încercarea de a preveni apariţia lor pare lipsită de sens atîta timp cît nu avem dovezi că ele se transformă la adult în plăci (McGILL 1968, 1974). În arterele coronare o parte din striurile lipidice apărute în perioada adolescenţei sau la adulţii tineri ar putea evolua spre leziuni mai severe, cu posibile semnificaţii clinice. Aceste striuri s-ar caracteriza histologic printr-o mai mare abundenţă de lipide extracelulare, celule de inflamaţie, capilare de neoformaţie şi fibre de colagen (GEER şi col. 1968). Sub influenţa unui factor de „convertire", s-ar produce necroza celulelor spumoase şi formarea centrului viitorului aterom. Trecerea de la forma predominantă intracelulară la forma predominantă extracelulară a lipidelor din anumite striuri, ca urmare a necrozei celulelor spumoase ar constitui „punctul critic" al patogeniei aterosclerozei, întrucît ar determina conversiunea striurilor în plăci. Sînt incriminaţi în producerea acestei conversiuni principalii factori de risc: hipertensiunea arterială, hipercolesterolemia şi tabagismul (*tabelul XVIII*). Aceşti factori de risc ar transforma stadiul de evoluţie benignă a aterosclerozei, dominat de prezenţa striurilor lipidice, într-un stadiu de evoluţie severă dominată de prezenţa ateroamelor (STRONG şi McGILL 1969). Anumiţi autori consideră apariţia necrozei celulelor spumoase ca un indicator microscopic de conversiune a striurilor în plăci (RESTREPO şi TRACY 1975). Un alt criteriu de conversiune ar fi creşterea cantităţii de colesterol liber sub formă cristalizată, cu apariţia în striuri a lipidelor birefringente la lumina polarizată (KATZ şi col. 1975). Striul lipidic cu cristale de colesterol a fost denumit „leziune inter-

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL XVIII

Clasificarea leziunilor de ateroscleroză, sugerată de McGILL 1974

Tipul leziunii	Perioada apariției	Particularități	Cauza
Îngroșare fibromusculară a intimei	0—15 ani	Adaptare fiziologică	Dezvoltarea arterelor
Striuri lipidice „juvenile"	5—15 ani	Depozitare lipidică în celulele musculare ale intimei	Programare genetică
Striuri lipidice „avansate"	15—30 ani	Proliferare, necroză, inflamație cronică, infiltrații	Hiperlipemia, hipertensiunea, tabagismul, etc.
Plăci fibroase	peste 30 de ani	Proliferare continuă, necroză, inflamație, infiltrație	Efect nociv continuu al factorilor de risc
Leziuni complicate	peste 40 de ani	Vascularizare, ulcerație, hemoragie, tromboză	Maturarea plăcii fibroase

mediară". Alți cercetători susțin că principalul aspect al conversiunii striurilor în plăci îl reprezintă acumularea de rețele de fibrină și organizarea lor ca tromb intraparietal (HAUST 1971). Este interesant de semnalat că în toată literatura consultată nu am găsit menționate aceste tendințe de convertire în plăci decît la striurile lipidice din arterele coronare. Acumulările de celule spumoase din aortă, artera carotidă, artere cerebrale, artere renale etc. par a nu prezenta tendința la transformare în plăci sub acțiunea factorilor de risc. Observațiile noastre, folosind și secțiuni seriate și semiseriate, au evidențiat apariția primelor plăci fibroase în arterele coronare de copil cu 5—8 ani înaintea primelor striuri lipidice (VELICAN D. și VELICAN 1978 a, 1979). Studii efectuate pe arterele coronare de adolescenți și adulți tineri, pînă la vîrsta de 25 de ani, nu ne-au permis să obținem documente morfologice privind conversiunea striurilor în plăci*. În arterele cerebrale se menționează, la adulții tineri, apariția plăcilor fibroase înaintea striurilor lipidice (SUZUKI 1974). În grefele de venă safenă folosite pentru revascularizarea chirurgicală a miocardului, în șunturile și fistulele arterio-venoase, ca și în tubii de material plastic grefați în aortă, apariția plăcilor fibroase nu este precedată de aceea a striurilor lipidice. Patologia comparată oferă numeroase exemple de ateroscleroză spontană bogată în plăci fibroase ce nu au fost precedate de striuri lipidice. Datele acumulate în domeniul patologiei experimentale a aterosclerozei demonstrează posibilitatea producerii de plăci fibroase fără ca aceste leziuni să înceapă evoluția cu aspect de striu lipidic. Observații efectuate pe 9 950 subiecți de sex masculin, între 10—69 ani, susțin absența conversiunii striurilor lipidice în plăci și existența unei histogeneze diferite pentru fiecare tip de leziune (VIKHERT și col. 1976), punct de vedere similar celui publicat de VIRCHOW în 1856. În același sens pledează și observațiile noastre efectuate pe artere coronare, artere cerebrale și aorte provenind de la subiecți între 1—80 de ani (VELICAN D. și VELICAN 1975 a). Un important argument asupra histogenezei diferite a striurilor și plăcilor îl aduc datele de biochimie, menționate în tabelul XIII, sugerînd originea locală a lipidelor din striuri și din β-lipoproteine a lipidelor din plăci (SMITH

* Atherosclerosis 1980, *36*, p. 449 și *37*, p. 33

Scanned with OKEN Scanner

și SMITH 1976). În sprijinul originii diferite a lipidelor pledează și rezultatele studiilor care au urmărit dinamic modificările cantitative și calitative ce apar în variate stadii evolutive ale striurilor și plăcilor (PANGANAMALA și col. 1974).

Din datele prezentate privind problema semnificației striurilor lipidice în aterogeneză și a posibilei lor conversiuni în plăci aterosclerotice se poate deduce caracterul controversat al acestei probleme. Stadiul actual al cunoștințelor noastre în acest domeniu este bine caracterizat de următoarea frază: „striurile lipidice continuă să rămînă o enigmă; nu înțelegem nici modul lor de apariție, nici dacă au vreo legătură cu ateroscleroza" (SMITH și SMITH 1976).

2. PLĂCILE GELATINOASE

Plecînd de la conceptul inflamației seroase (RÖSSLE 1944), numeroși anatomopatologi au prezentat edemul intimal ca stadiu inițial al formării plăcilor aterosclerotice (BREDT 1949; MEYER 1949; MÜLLER 1949; SINAPIUS 1949; BREDT 1969). Mai recent acest edem cu localizare focală este descris sub denumirea de placă gelatinoasă și inclus, alături de striurile lipidice și microtrombii încorporați în intimă, ca o leziune cu capacități potențiale de evoluție spre placa aterosclerotică (HAUST 1971, 1977).

Microscopic, placa gelatinoasă apare ca o zonă de edem, cu diametrul de 1—2 mm, conținînd spații interfibrilare destinse și acumulări lipidice perifibrilare. Macroscopic este greu de identificat, fiind necesare observații amănunțite cu ajutorul lupei și în ultima instanță controlul microscopic. În consecință, frecvența plăcilor gelatinoase nu poate fi precizată pe baza examenelor necropsice de rutină, spre deosebire de striurile lipidice ce pot fi ușor vizualizate.

Edemul intimal are caracter de insudat. Distensia fibrilară pe care o produce se asociază cu o stare de „imbibiție" a substanței fundamentale, scăderea conținutului ei în mucopolizaharide acide, distorsionarea și fragmentarea fibrelor. În spațiile interfibrilare destinse se acumulează rețele de fibrină și material cu reacțiile tinctoriale ale fibrinoidului. Dacă episoadele de insudație se repetă la intervale variabile, placa gelatinoasă capătă un aspect stratificat, stratul superficial fiind cel mai bogat în rețele de fibrină, iar cel profund cel mai bogat în fibre elastice și colagene. Compoziția chimică a plăcilor gelatinoase sugerează că ar fi formate prin aflux de plasmă, în acest sens pledînd constatarea că în aceste plăci cantitatea de β-lipoproteine și de fibrinogen este dublă comparativ cu cea din plasmă (SMITH și SMITH 1976). S-au detectat 6—7 mg fibrinogen/100 mg substanță uscată și numai 3—4 mg de fibrină, ceea ce demonstrează că în placa gelatinoasă numai aproximativ jumătate din macromoleculele de fibrinogen sînt convertite în fibrină. Dacă anumiți factori locali potențează această transformare, în placa gelatinoasă se acumulează rețele de fibrină care, prin organizare conjunctivă dau naștere unei plăci fibroase. Prezența în jurul anumitor plăci fibroase a unor zone similare structural plăcilor gelatinoase a fost interpretată ca o dovadă a conversiunii plăcii gelatinoase în placă fibroasă. De asemenea, se mai susține că modul de extindere al plăcii fibroase este organizarea conjunctivă a fragmentelor de placă gelatinoasă aflate la periferia plăcii fibroase (SMITH și SLATER 1973). Alte

Scanned with OKEN Scanner

observații sugerează că fragmente de plăci gelatinoase rămîn sub forma unor „tunele" în interiorul plăcilor fibroase, „tunele" ce leagă leziunea de zona subendotelială și care ar favoriza acumularea progresivă a lipidelor la baza plăcilor (STOUT 1976). Deși un număr tot mai mare de cercetători se asociază punctului de vedere ce susține convertirea plăcilor gelatinoase în plăci fibroase, argumentele care să ateste respectiva convertire sînt încă neconvingătoare. Rămîne, de asemenea, vag precizat însuși termenul de placă gelatinoasă, sub acest termen putînd fi incluse simplul edem intimal (LINDNER 1974) și procese cu caracter necrozant (BREDT 1969). Asupra semnificației acestor procese vom reveni în paginile următoare.

3. MICROTROMBII

Teoria trombogenă reactualizată de DUGUID (1948, 1949) susține că microtrombii formați pe suprafața endotelială și apoi încorporați în zona subendotelială a intimei pot da naștere, prin încorporări succesive și organizare conjunctivă, plăcilor fibroase. În sprijinul acestei teorii pledează rezultatele obținute pe secțiuni seriate din tromboze recanalizate, prezente în arterele coronare și care conțineau variate stadii intermediare de convertire a trombusului în placă aterosclerotică. Pe baza acestor documente histologice s-a afirmat că numeroase plăci provin din organizarea conjunctivă a microtrombilor încorporați în intima arterelor.

Ca și placa gelatinoasă, microtrombii aderenți pe suprafața arterei sau încorporați în grosimea intimei nu pot fi vizualizați la examenul necropsic de rutină. Aceasta limitează foarte mult posibilitățile cunoașterii incidenței acestor leziuni și a variațiilor acestei incidențe în funcție de teritoriul vascular, vîrstă, sex, condiții de mediu, alimentație etc. Poate fi folosit examenul cu lupa dar din experiența noastră rezultatele obținute sînt nesatisfăcătoare. În consecință numai examenul microscopic poate evidenția cu certitudine prezența microtrombilor, mai ales cînd acest examen este făcut pe secțiuni semiseriate. Este necesară folosirea unor colorații speciale de tipul hematoxilinei fosfotungstice și a tricromului Mallory precum și folosirea anticorpilor antifibrină marcați cu substanțe fluorescente.

Microtrombii încorporați în intimă se găsesc în stadii variate de organizare conjunctivă sau/și necroză. Drept urmare tabloul microscopic este heterogen și cel mai frecvent se colorează specific numai microtrombusul mai recent încorporat, care nu a suferit încă organizarea conjunctivă. La baza plăcii cu aspect de stratificare „geologică", corespunzînd succesiunii încorporării microtrombilor, se găsește un țesut conjunctiv hialinizat, iar în zona centrală sînt deseori prezente resturi de trombi înconjurate de mase necrozate. La examenul macroscopic plăcile fibroase provenite din organizarea conjunctivă a microtrombilor au un aspect albicios-sidefiu caracteristic și prezintă o duritate deosebită la palpare.

Frecvența microtrombilor în diferite stadii de conversiune spre plăci fibroase variază de la un grup de cercetători la altul. Astfel în unele studii se menționează prezența depozitelor de fibrină în 27 din 50 aorte de om cu plăci aterosclerotice, ceea ce ar reprezenta o proporție de peste 50% (CRAWFORD și LEVENE 1952). În altă investigație apariția plăcilor fibroase provenite din organizarea conjunctivă a microtrombilor a fost observată în 13

Scanned with OKEN Scanner

din 29 de aorte; dacă proporţia se referă la plăcile aterosclerotice, din 58 de leziuni analizate 24 au prezentat o origine trombotică (HAUST şi col. 1956). Şi în patologia comparată, s-au descris microtrombi ce produc îngroşări intimale şi plăci aterosclerotice, mai ales la bovidee (LIKAR şi col. 1967, 1969).

Dacă se utilizează tehnica anticorpilor fluorescenţi, prezenţa fibrinei poate fi evidenţiată şi în plăcile fibroase la care coloraţiile pentru fibrină au dat rezultate negative. Astfel pe baza studiilor cu anticorpi fluorescenţi se menţionează că din 50 de plăci aortice examinate, toate conţineau depozite de fibrină, indiferent de stadiul de evoluţie, apărînd însă o scădere semnificativă a acestor depozite cu cît leziunea devenea mai matură şi organizarea conjunctivă era mai evidentă. Concluzia lucrării susţine că depozitele de fibrină încorporate în intimă contribuie în mod semnificativ la apariţia şi dezvoltarea plăcilor aterosclerotice (HAUST şi col. 1964). În alte investigaţii efectuate pe arterele coronare de om nu se aduc argumente privind rolul microtrombilor în apariţia plăcilor, ci numai în evoluţia lor spre leziuni complicate (FRIEDMAN şi BOVENKAMP 1966 a, b). Din 57 de trombi analizaţi, 34 au prezentat variate tipuri de conversiune, cel mai des întîlnit fiind canalizarea şi formarea de ţesut de granulaţie. Numai în 6 din cei 57 de trombi conversiunea s-a efectuat în sensul apariţiei unei plăci aterosclerotice, iar aspecte de încorporare succesivă de microtrombi au fost evidenţiate în 3 din 57 de zone trombotice investigate.

Un aspect particular în evoluţia microtrombilor încorporaţi în intimă îl reprezintă modificările cu caracter regresiv. Într-un prim stadiu apar mici focare de fibrinoliză, iar într-un al doilea stadiu, din confluarea acestor focare apar zone întinse de necroză incluzînd resturi nedegradate de trombi. Necroza afectează cel mai frecvent microtrombi încorporaţi în zona mediană a intimei, în timp ce în zona subendotelială şi bazală organizarea conjunctivă continuă, rezultînd aspecte de hialinizare. În masa de necroză sînt reţinute lipidele circulante, precum şi macromolecule de fibrinogen, neconvertite în fibrină. Cînd centrul necrotic îşi măreşte diametrele, leziunea ia aspect de aterom şi suferă o dublă capilarizare, dinspre lumen şi dinspre medie. Ar rezulta, din datele prezentate, că evoluţia microtrombilor spre placă fibroasă sau spre aterom depinde de importanţa procesului de necroză ce împiedică organizarea conjunctivă a anumitor microtrombi. Se întîlnesc şi numeroase stadii intermediare între placa fibroasă tipică şi ateromul tipic, reflectînd dinamismul proceselor de fibrinoliză şi organizare conjunctivă.

Importanţa microtrombilor în histogeneza plăcilor aterosclerotice este absolutizată de anumiţi autori (care susţin că toate plăcile provin ca urmare a acestei conversiuni) şi negată de alţii tot atît de categoric. Grupul cel mai numeros atribuie microtrombilor un rol important în evoluţia plăcilor şi nu în formarea lor, în special în acel tip de evoluţie care duce la episodul terminal ocluziv. Întrucît marea majoritate a observaţiilor provin din material recoltat *post mortem* nu se poate încă afirma dacă raritatea cu care sînt întîlniţi microtrombii este reală sau rezultatul fibrinolizei ce are loc pînă în momentul recoltării pieselor. Această raritate mai poate fi şi consecinţa examinării vaselor pe secţiuni efectuate la distanţe mari una de alta, scăpînd astfel controlului vizual un anumit număr de microtrombi. Observaţii efectuate de noi pe copii, adolescenţi şi adulţi tineri, folosind secţiuni seriate şi semiseriate şi metode histologice de colorare a fibrinei (dar nu şi metode bazate pe anti-

Scanned with OKEN Scanner

corpi fluorescenţi) ne permit să afirmăm că pînă la vîrsta de aproximativ 25 de ani încorporările de microtrombi nu joacă un rol important în histogeneza plăcilor aterosclerotice.

4. ÎNGROŞAREA INTIMEI

Datele acumulate în cursul ultimelor decenii au adus dovezi concludente că atît la om, cît şi la animalele care fac leziuni spontane de ateroscleroză, îngroşarea intimei, denumită frecvent şi hiperplazie fibromusculară, precede în mod constant dezvoltarea plăcilor aterosclerotice. La om hiperplazia fibromusculară a intimei poate fi evidenţiată de la naştere în arterele coronare şi aortă, în perioada adolescenţei în arterele cerebrale şi la adulţi în arterele renale, femurale etc., apărînd ca un proces programat genetic. Peste această programare genetică s-ar suprapune ulterior influenţe generale şi locale care determină gradul îngroşărilor intimale. Anumiţi autori susţin că nou-născuţii de sex masculin ar avea în arterele coronare şi în aortă o intimă care reprezintă aproximativ 26% din grosimea mediei, pe cînd la nou-născuţii de sex feminin intima ar reprezenta doar 8% din grosimea mediei (DOCK 1946). Această diferenţă a fost corelată cu dezvoltarea mai rapidă şi mai intensă a plăcilor aterosclerotice la bărbaţii adulţi comparativ cu femeile adulte. Existenţa unei intime mai groase la copiii de sex masculin comparativ cu cei de sex feminin nu a fost confirmată de toţi cercetătorii care au abordat acest subiect de investigaţie. În Israel, unde există grupe de populaţii cu susceptibilităţi diferite la cardiopatia ischemică, s-a corelat această susceptibilitate cu gradul îngroşării intimei în arterele coronare de copii. Rezultatele ar indica prezenţa intimelor mai îngroşate la copiii ai căror părinţi făceau parte din grupul cu incidenţă crescută a cardiopatiei ischemice şi mai ales a infarctului de miocard (VLODAVER şi col. 1969 a). Copiii din zona de est a Finlandei se nasc cu o intimă mai îngroşată decît cei din zona de vest a aceleiaşi ţări, iar la adulţi incidenţa infarctului de miocard este de două ori mai mare în est comparativ cu zonele din vest (PESONEN şi col. 1975). În cercetările noastre am observat că 22% dintre nou-născuţi au intime îngroşate (VELICAN D. şi VELICAN 1978 b), proporţie similară cu cea detectată pe un grup de nou-născuţi şi sugari în Canada (JAFFE şi col. 1971).

În afara diferenţelor legate de factori genetici şi de sex, gradul de îngroşare al intimei pare a fi influenţat şi de factori endocrini. Dovezile existente provin mai ales din date experimentale, menţionîndu-se în acest sens constanţa cu care se dezvoltă hiperplazia fibromusculară a intimei la şobolanii ce au depăşit vîrsta pubertăţii. Grosimea intimei creşte cu fiecare nouă perioadă de reproducere; concomitent îngroşarea intimală cuprinde un număr tot mai mare de teritorii arteriale şi ia un caracter tot mai sever. Printre factorii incriminaţi pe prim plan s-ar situa hormonii corticosuprarenali de tipul glucocorticoizilor care ajung în sîngele circulant la valori ridicate datorită hiperfuncţiei axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal (WEXLER 1969). S-au mai observat îngroşări intimale după întreruperea bruscă a lactaţiei, corelate şi cu alterări grave ale ţesutului elastic din artere (JUDD şi WEXLER 1969), după excitaţii repetate ale splanhnicului (GUTSTEIN şi col. 1963), simpatectomie lombară (MARINESCU şi col. 1968), stresuri nervoase prelungite etc. În legătură cu această ultimă condiţie menţionăm apariţia mai

Scanned with OKEN Scanner

rapidă, mai difuză şi mai severă a îngroşării intimale la maimuţele ţinute în captivitate, comparativ cu cele de sex şi vîrstă similară trăind în libertate (VLODAVER şi col. 1968).

Marea majoritate a factorilor care produc îngroşări intimale acţionează prin intermediul stresurilor hemodinamice. În plus apar îngroşări intimale şi sub acţiunea unor factori care măresc permeabilitatea endotelială, permiţînd pătrunderea unor macromolecule ce stimulează proliferarea celulelor musculare netede: β-lipoproteinele, fibrinogenul, factori trombocitari. În arterele coronare de om ar exista un punct critic al acestei îngroşări care favorizează apariţia necrozei; el a fost apreciat la 0,8 mm (DAOUD şi col. 1964). O intimă cu această grosime sau mai mare ar prezenta zone de hipoxie severă şi prelungită în care s-ar produce degradarea structurilor preexistente rezultînd zone de necroză ce pot constitui puncte de plecare pentru formarea ateroamelor. Corelarea gradului de hipoxie cu gradul îngroşării intimei a fost demonstrată şi în condiţii experimentale (KIPSHIDZE 1959; OONEDA 1968).

Reamintim că dintre factorii de risc hipertensiunea arterială produce îngroşări intimale în arterele de toate dimensiunile, precum şi în arteriole. Creşterile peste normal atît ale presiunii sistolice, cît şi diastolice reprezintă un stimul pentru proliferarea celulelor musculare netede, şi pentru sinteza de mucopolizaharide acide, elastină şi colagen (SCHMITT şi col. 1970; WOLINSKY 1970 c; ECKERT şi col. 1971). În afara factorilor de risc, anumite malformaţii congenitale pot crea un teren favorabil dezvoltării precoce a îngroşărilor intimale şi ulterior a plăcilor aterosclerotice, observaţii efectuate mai ales la nivelul arterelor cerebrale (ALEXIANU 1972).

Îngroşarea intimală pare a fi singura modificare ce precede apariţia plăcilor aterosclerotice la numeroase animale care fac forma spontană a bolii, în şunturile şi fistulele arterio-venoase, în unele grefe de venă safenă implantate în circulaţia coronariană. Etapele acestei treceri de la o modificare considerată genetic programată la o leziune particulară aterosclerozei sînt încă puţin cunoscute. Aceste etape sînt prezentate în literatură ca leziuni „preaterosclerotice" sau incluse sub denumirea de „preplacă".

Investigaţiile noastre în acest domeniu au subliniat frecvenţa cu care apare procesul de *histoliză intimală* în zonele unde se dezvoltă plăci aterosclerotice în intimele îngroşate. Am folosit termenul de *histoliză intimală* spre a desemna dezintegrarea focală a componentelor ţesutului conjunctiv (substanţă fundamentală, fibre şi celule) situat între endoteliu şi limitanta elastică internă a arterei (VELICAN C. şi VELICAN 1976 c; 1978 b). Histoliza intimală apare sub trei forme convenţional descrise ca: severă, moderată şi uşoară. Forma severă, evidenţiabilă mai ales în zonele profunde ale intimei îngroşate, duce la dezintegrarea totală a structurilor preexistente şi înlocuirea lor cu un detritus amorf. Prin fuzionarea acestor zone de necroză iau naştere centrii necrotici ai ateroamelor în curs de dezvoltare. În funcţie de cantitatea de lipide şi de fibrină acumulată în cavităţile cu detritus, placa va prezenta o predominanţă a depunerilor lipidice sau a formării de tromboze intraparietale. Forma moderată a histolizei intimale, cea mai frecvent întîlnită, apare necorelată cu gradul îngroşării intimei şi se caracterizează printr-o necroză mai puţin intensă, ducînd la un aspect de omogenizare structurală. Lipidele se depun pe resturile de fibre alterate, iar între fibre apar reţele de fibrină. Leziunea poate evolua spre necroză totală şi atunci ia aspectul formei severe, sau suferă un proces de organizare conjunctivă şi atunci ia aspectul unei plăci fibroase. Forma uşoară a histolizei intimale este dominată de edem interstiţial şi leziuni degenerative minore, implicînd mai mult substanţa fundamentală. Este probabil ca în parte, sau total, aceste leziuni să fie reversibile, după cum este posibil ca ele să treacă spre forma moderată sau severă.

Analizele histochimice efectuate ne-au permis să evidenţiem că sub acţiunea factorilor aterogeni care produce histoliza intimală se eliberează mai întîi grupele sulfat ale muco-

Scanned with OKEN Scanner

polizaharidelor substanței fundamentale a intimei, precum și acidul sialic din glicoproteine. Prin studii *in vitro* am putut demonstra că aceste eliminări de grupe acide reprezintă o înlăturare a barierei sterice ce menținea integritatea substanței fundamentale și fibrelor, care devin astfel susceptibile acțiunii unor proteaze nespecifice. Urmează o degradare rapidă a substanței fundamentale, rețelelor reticulinice și fibrelor fine de colagen. Ulterior fibrele elastice își pierd teaca externă mucopolizaharidică și suferă o degradare cu aspect granular, iar celulele musculare prezintă o înmulțire a lizozomilor și vacuolelor de autofagie.

Incidența cu care am întîlnit formele severă și moderată de histoliză intimală, singurele care dau naștere la plăci cu posibile semnificații clinice este prezentată în *tabelul XIX*. După cum rezultă din acest tabel, histoliza intimală este evidențiabilă din copilărie cu o incidență de 4%. Această incidență crește progresiv la fiecare grupă de vîrstă, leziunea afectînd peste 1/3 din adulții tineri și fiind de peste trei ori mai frecventă la bărbați decît la femeile de vîrste similare.

TABELUL XIX

Frecvența procesului de histoliză intimală (formele severă și moderată), corelată cu sexul și grupa de vîrstă (VELICAN C. și VELICAN D., 1976 c)

Grupa de vîrstă (ani)	*Cazuri investigate*			*Cazuri cu histoliza intimei*			Raport bărbați/ femei
	total	bărbați	femei	total	bărbați	femei	
1—10	50	22	28	2 (4%)	2	0	2.0
11—20	75	41	34	9 (12%)	6	3	2.0
21—30	78	37	41	29 (37%)	22	7	3.1
31—40	74	39	35	48 (64%)	37	11	3.3

La adulții maturi, în perioada cînd apar primele semne clinice de cardiopatie ischemică, histoliza intimală a fost detectată în 2/3 din arterele coronare investigate. Ea afectează mai sever emergențele, bifurcațiile, curburile, zonele paraostiale, respectiv teritoriile cunoscute pentru susceptibilitatea lor particulară la dezvoltarea plăcilor aterosclerotice (VELICAN C. și VELICAN 1976, b, 1978 b; VELICAN D. și col. 1977).

În *fig. 76* prezentăm aspectul microscopic al unor posibili precursori ai plăcilor aterosclerotice, iar în *fig. 77*, aspectul microscopic al procesului de histoliză intimală.

E. ATEROSCLEROZA LA COPII, ADOLESCENȚI ȘI ADULȚI TINERI

1. PARTICULARITĂȚI LEZIONALE

Spre deosebire de adulți, copiii prezintă extrem de rar manifestări clinice de cardiopatie ischemică, fiecare caz întîlnit fiind publicat ca o observație aparte (STRYKER 1946; GROSS și SCHIFFBAUER 1968; BOR 1969; SALDIVARN și col. 1974). Existența unei forme pediatrice a aterosclerozei este însă sugerată de o anumită frecvență cu care se întîlnesc factorii de risc în cursul copilăriei, în special hipertensiunea arterială, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia și obezitatea. Investigații epidemiologice efectuate în țările puternic industrializate au demonstrat că unul din trei copii de sex masculin are „șansa" de a face infarct de miocard înaintea vîrstei de 60 de ani (KANNEL 1976). Cardiologii și epidemiologii consideră că această evoluție ar putea fi împiedicată prin aplicarea, de către medicul pediatru, a unor măsuri de profilaxie primară la copii. Pe de altă parte, în literatura de specialitate nu se

Scanned with OKEN Scanner

găsesc încă date convingătoare privind existența unei forme pediatrice a aterosclerozei, care ar necesita o prevenire similară cu aceea folosită pentru forma de la adult. De asemenea medicul pediatru nu are la dispoziție nici indicații privind momentul cînd urmează a fi începute măsurile de profilaxie și durata

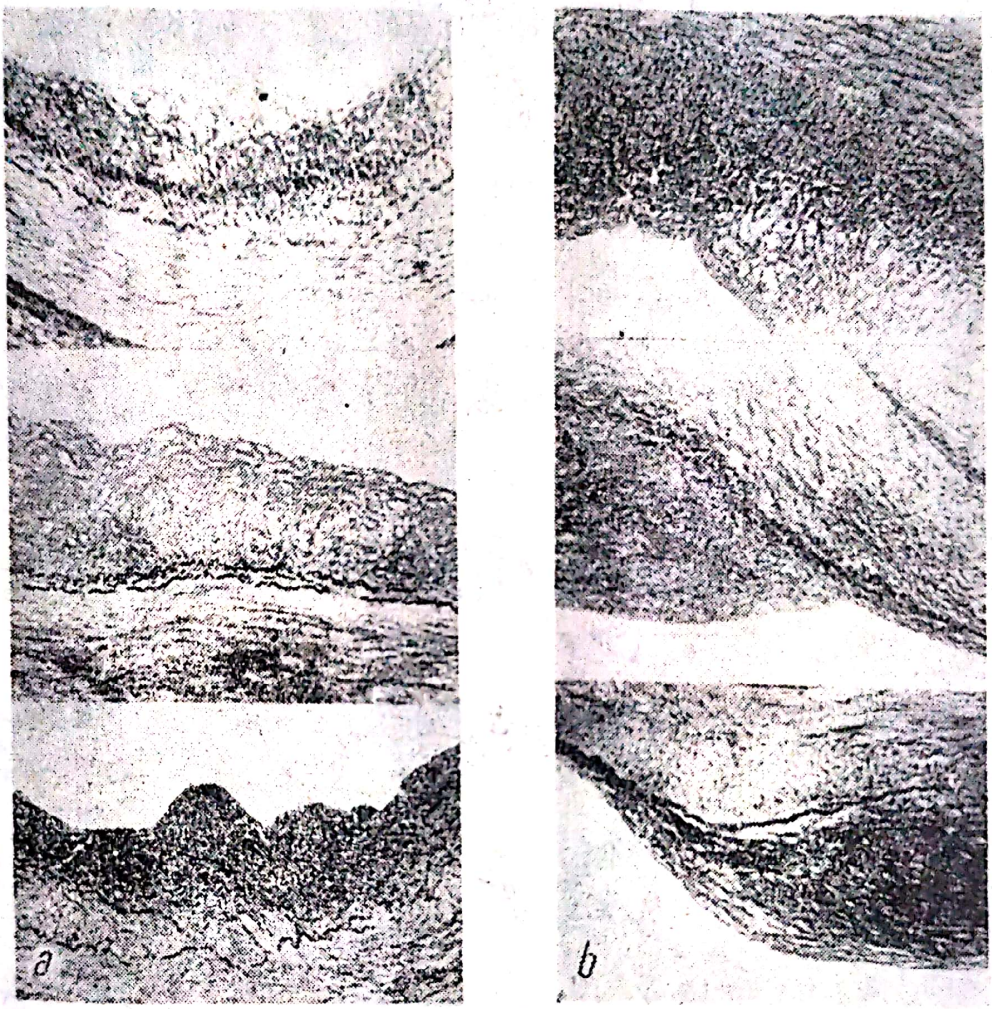


Fig. 76 Precursorii posibili ai plăcii aterosclerotice: striul lipidic (*a*, sus), placa gelatinoasă (*a*, mijloc), intima cu îngroșări patologice (*a*, jos). Plăcile care ar putea rezulta din acești precursori sînt predominant lipidice (*b*, sus) mucoide (*b*, mijloc) sau fibroase (*b*, jos). Fucselină Weigert-albastru alcian, × a 120, b 440.

aplicării lor. Aceste dificultăți provin din absența unui studiu asupra *istoriei naturale a aterosclerozei arterelor coronare* din care să rezulte la ce vîrstă apar leziunile, sub ce aspect și cu ce tendință evolutivă.

Date incluzînd observații sporadice în acest domeniu menționează, de exemplu, la 176 sugari decedați în prima lună de la naștere, prezența frecventă a îngroșărilor intimale, iar la mai puțin de 1% dintre subiecți încorporări de microtrombi, necroză și fibroză intimală (JAFFÉ și col. 1971). Un alt studiu efectuat pe 87 nou-născuți subliniază importanța procesului de îngroșare intimală cu reduceri semnificative ale lumenului arterelor coronare la 1/5 dintre subiecți (McMAHON și DICKISON 1967). O investigație bazată

Scanned with OKEN Scanner

pe microscopie electronică descrie la sugari modificări „preaterosclerotice" apărute în artera descendentă anterioară sub aspectul alterărilor limitantei elastice interne, edemului intimal, reacţiilor degenerative celulare şi îngroşări intimale severe (RAPOLA şi PESONEN 1977).

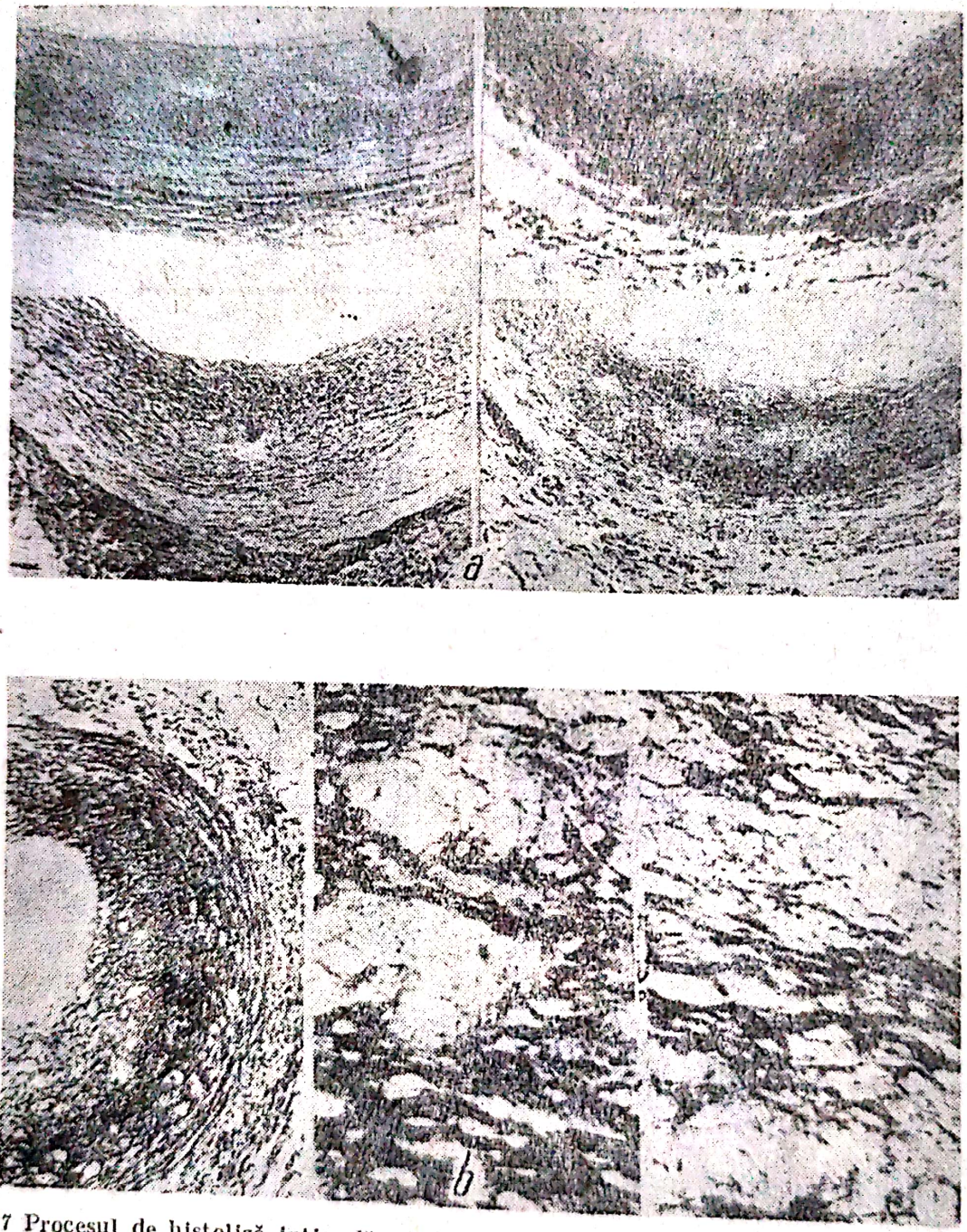


Fig. 77 Procesul de histoliză intimală (săgeţi), cu diverse grade de severitate, evidenţiat în intimele îngroşate ale arterelor coronare de adult (a). Imaginea de jos (b) demonstrează degradarea focală a fibrelor din zona de histoliză intimală apărută în vecinătatea unui striu lipidic. a, fuxelină Weigert – albastru alcian ×120; b, impregnaţie argentică Gömöri, 120 şi 880.

Cercetările noastre privind istoria naturală a aterosclerozei arterelor coronare se bazează pînă acum pe studiul a 527 corduri provenind de la subiecţi neselecţionaţi, între 0—40 ani. Acest studiu a fost făcut după următorul

Scanned with OKEN Scanner

protocol: *a*) desenarea paternului de ramificaţie a arterelor coronare; *b*) controlarea cu lupa a traiectului principalelor artere şi a zonelor miocardice învecinate; *c*) recoltarea de fragmente din: emergenţa arterelor coronare stîngă şi dreaptă din aortă, trunchiul comun al coronarei stîngi, zona de bifurcaţie a trunchiului comun, zona paraostială şi segmentul proximal al arterelor descendentă anterioară şi circumflexă, emergenţa arterelor diagonale şi septale din descendenta anterioară şi a arterei marginale stîngi din circumflexă, segmentul proximal şi intermediar al arterei coronare drepte, emergenţa arterelor conului, nodului sino-atrial, marginala dreaptă, nodului atrio-ventricular şi descendenta posterioară din coronara dreaptă. Fragmentele recoltate au fost fixate în Carnoy şi incluse la parafină, o anumită parte din aceste fragmente fiind secţionate şi la criostat pentru evidenţierea lipidelor. Pentru observaţii de rutină s-a folosit coloraţia fucselină Weigert o oră, albastru alcian pH 2,5 două ore; au mai fost utilizate tricromul Masson şi Mallory, picrofucsina Van-Gieson, hematoxilina fosfotungstică şi numeroase metode de histochimie prezentate în lucrări anterioare (VELICAN C. şi VELICAN 1971, 1972, 1978 c). Grosimea intimei şi mediei a fost măsurată cu un micrometru ocular.

În *tabelul XX* prezentăm rezultatele obţinute pe un lot de 380 subiecţi între 0—15 ani, incluzînd modificările cu caracter patologic evidenţiate, perioada cînd apar şi incidenţa lor. Aceste rezultate demonstrează că pînă la

TABELUL XX

Modificări corelate cu procesul de aterogeneză, evidenţiate în arterele coronare la subiecţi în vîrstă între 0—15 ani (VELICAN D. şi VELICAN C., 1978 b, 1979)

Aspectul microscopic	Grupa de vîrstă (ani)			
	0	1—5	6—10	11—15
	(%)	(%)	(%)	(%)
Îngroşări intimale peste 150 microni	5	12	27	33
Edem intimal	12	6	5	10
Microtrombi	0	1	1	1
Fibroză intimală difuză	0	1	5	16
Plăci fibroase	0	0	2	4
Necroză intimală focală	0	0	2	6
Plăci gelatinoase	0	0	0	6
Striuri lipidice	0	0	0	6

vîrsta de cinci ani la copiii din ţara noastră sînt prezente în arterele coronare doar procese de creştere şi remodelare, dominate de îngroşarea intimală şi restructurările limitantei elastice interne. La grupa de vîrstă 6—15 ani aceste procese de creştere şi remodelare continuă, dar apar şi aspecte lezionale cu formarea primelor plăci fibroase şi a primelor zone de necroză intimală. Topografia primelor plăci fibroase este prezentată în *fig. 78*: zona de emergenţă a arterei descendente anterioară şi a arterei circumflexă, precum şi a primei artere diagonale şi septale. Relaţia dintre apariţia primelor leziuni ateroscleretice şi grosimea intimei arterei coronare este prezentată în *tabelul XXI*. Din acest tabel se poate deduce că formarea primelor plăci fibroase este asociată cu o intimă groasă de cel puţin 150 microni, grosime care este deja prezentă la 5% dintre nou-născuţi.

Lipidele din primele plăci fibroase, au o dispoziţie perifibrilară, fără aspecte acumulative şi sînt formate în special din sfingomielină. Nu am putut

Scanned with OKEN Scanner

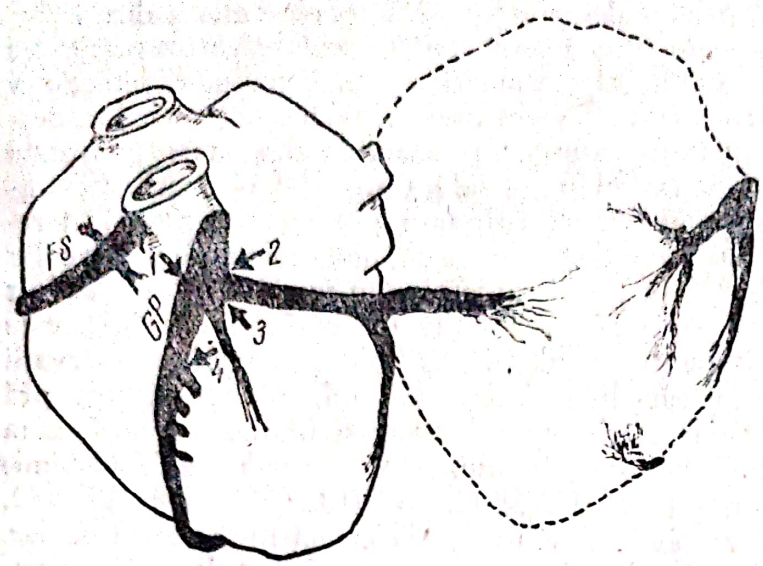


Fig. 78 Particularităţile topografice ale primelor plăci aterosclerotice evidenţiate în arterele coronare de copii între 6—15 ani. Ele se dezvoltă numai în artera coronară stîngă, în zona de emergenţă a arterei descendente anterioare (1), arterei circumflexe (2), primei ramure diagonale (3) şi primei ramure septale (4) ale arterei descendentă anterioară. În aceiaşi figură sînt menţionate zonele unde apar primele plăci gelatinoase (GP) la grupa de vîrstă 11—15 ani şi primele striuri lipidice (FS) la aceiaşi grupă de vîrstă (după D. VELICAN şi VELICAN 1979, cu permisiunea editurii Associated Scientific Publishers — Elsevier, Amsterdam).

TABELUL XXI

Incidenţa (%) afectării aterosclerotice a arterelor coronare la 380 feţi, nou-născuţi, sugari şi copii, corelată cu gradul îngroşării intimei (microni, valori maxime)

ASPECTE PATOLOGICE:	TOTAL	ÎNGROŞARE INTIMALĂ		
		0—50 microni	50—100 microni	peste 150 microni
Microtrombi	3	1	1	1
Fibroză intimală difuză	22	4	12	6
Plăci fibroase	6	0	0	6
Necroză intimală focală	8	0	2	6
Plăci gelatinoase	6	0	2	4
Striuri lipidice	6	0	4	2

evidenţia corpi birefringenţi sau cristale de colesterol, nici aspecte de încorporare de microtrombi sau de agregare trombocitară. În ceea ce priveşte tendinţa la obstrucţie, reducerea lumenului a variat între 25 şi 50%.

După cum am mai menţionat, alături de primele plăci fibroase am evidenţiat la grupa de vîrstă 6—10 ani şi primele zone de necroză intimală cu o incidenţă de 2% ce creşte la 6% între 11—15 ani. Aspectul microscopic este de histoliză intimală moderată, descrisă în paginile anterioare. Pe de altă parte nici striurile lipidice, nici plăcile gelatinoase nu sînt prezente la copiii de 6—10 ani, apărînd pentru prima dată la grupul 11—15 ani, cu o incidenţă de 6%. Aceasta demonstrează că între vîrsta formării primelor plăci fibroase şi cea a formării primelor striuri lipidice sau plăci gelatinoase există un interval de 5—8 ani; aceasta sugerează, de asemenea, că în arterele coronare de copil plăcile fibroase nu pot proveni nici din striurile lipidice şi nici din plăcile gelatinoase. Investigaţiile noastre în acest domeniu, folosind secţiuni seriate, semiseriate şi metode histochimice, ne-au permis să evidenţiem conversiunea în plăci fibroase a anumitor pernite intimale situate în principalele zone de emergenţă ale arterei coronare stîngi (VELICAN C. şi VELI-

Scanned with OKEN Scanner

CAN 1979 a, b; VELICAN D. şi VELICAN 1979). Aceste perniţe suferă un proces de omogenizare structurală, incluzînd depleţia substanţei fundamentale şi liza fibrelor elastice şi de colagen, urmat de o proliferare nodulară a celulelor musculare netede, cu neoformare intensă atît de substanţă fundamentală cît şi de fibre de colagen, ambele cu un patern chimic şi de stabilitate structurală diferit de cel al perniţei intimale preexistente. Incidenţa cu care am întîlnit aceste aspecte de conversiune este prezentată în fig. 82.

Din datele obţinute se poate trage concluzia că *la copii* patologia arterelor coronare corelată cu procesul de aterogeneză este o *patologie a principalelor zone de emergenţă ale arterei coronare stîngi*. Prin conversiunea anumitor perniţe intimale situate în aceste zone de emergenţă se formează primele plăci fibroase ce apar cu o incidenţă de 2% între 6—10 ani şi de 4% între 11—15 ani. Aceste plăci nu au caracter obstructiv, nu conţin acumulări lipidice şi de fibrină, nu au tendinţa spre necroză şi ulceraţie. Topografia lor şi modul de dezvoltare pun pe primul plan al histogenezei stresurile hemodinamice, putîndu-se lua în consideraţie fie stresuri intensificate de condiţii locale (patern de ramificaţie, de exemplu), fie o hiperreactivitate a peretelui arterelor coronare la stresuri aparent normale. Este greu de presupus că măsurile de profilaxie de care dispunem ar putea influenţa histogeneza acestor leziuni care, dealtfel, au aparent o capacitate obstructivă redusă.

Urmărind în continuare istoria naturală a aterosclerozei arterelor coronare am investigat şi loturi mari de adolescenţi şi de adulţi tineri*. Perioada de vîrstă 16—25 de ani este cea mai puţin cunoscută în literatură din punct de vedere al incidenţei, topografiei şi particularităţii microscopice a leziunilor, datorită dificultăţilor de a obţine material *post mortem*. Referinţele din literatură sînt limitate la autopsiile soldaţilor americani morţi în luptele din Coreea şi Vietnam. Examenul macroscopic a 200 de tineri morţi în războiul din Coreea, media de vîrstă 22 ani, a evidenţiat, la 35% îngroşări fibroase intimale, la 42% plăci aterosclerotice, iar la 15,3% leziuni cu caracter obstructiv (ENOS şi col. 1953). Examenul macroscopic al tinerilor morţi în Vietnam a detectat plăci aterosclerotice şi alte tipuri de leziuni la 45% dintre subiecţi, 5% avînd forme severe, fără însă a obstrua în mod semnificativ lumenul arterelor (McNAMARA şi col. 1971). Incidenţa găsită de noi la grupele de vîrstă 16—20 şi 21—25 de ani, comparativ cu grupele de copii este prezentată în *fig. 79*. Se poate constata că în perioada 16—20 ani inci-

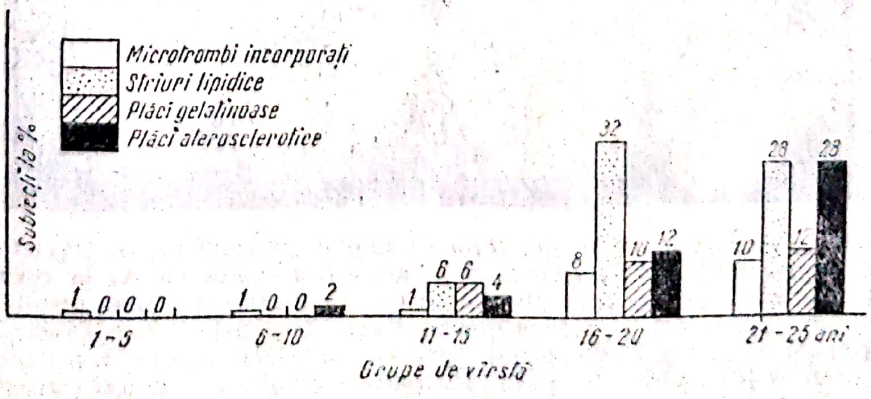


Fig. 79 Incidenţa precursorilor sugeraţi ai plăcilor aterosclerotice şi a plăcilor aterosclerotice însăşi, în arterele coronare de copii, adolescenţi şi adulţi tineri.

Scanned with OKEN Scanner

denţa plăcilor creşte de trei ori în comparaţie cu grupa de vîrstă 11—15 ani, incidenţa striurilor lipidice de peste cinci ori şi a plăcilor gelatinoase de numai două ori. Trecerea de la adolescenţă spre perioada adultă se asociază, între 21—25 ani, cu dublarea incidenţei plăcilor. Ar mai fi de menţionat că la adolescenţi, în comparaţie cu copiii, plăcile aterosclerotice se dezvoltă şi în coro-

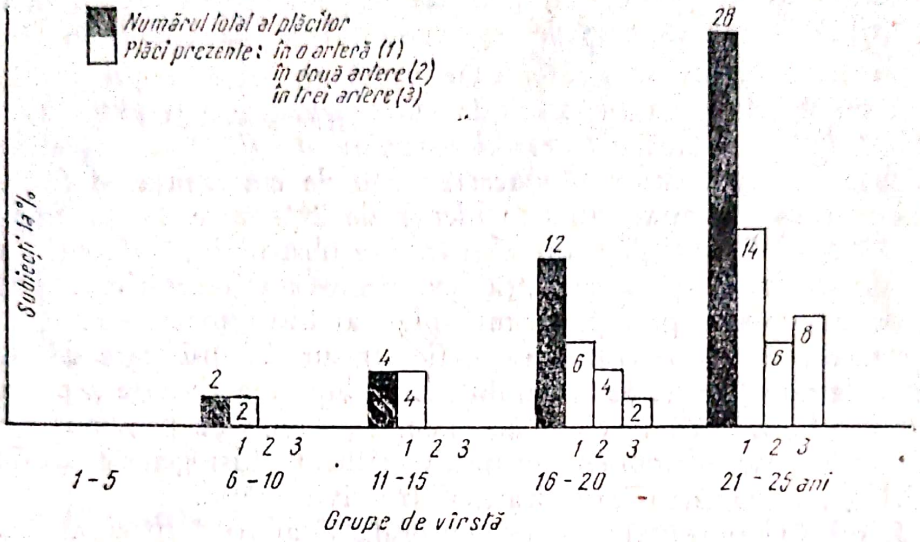


Fig. 80 **Incidenţa plăcilor aterosclerotice afectînd unul (artera descendentă anterioară), două (artera descendentă anterioară şi artera circumflexă) şi trei (artera descendentă anterioară, artera circumflexă şi artera coronară dreaptă) vase la copii, adolescenţi şi adulţi tineri.**

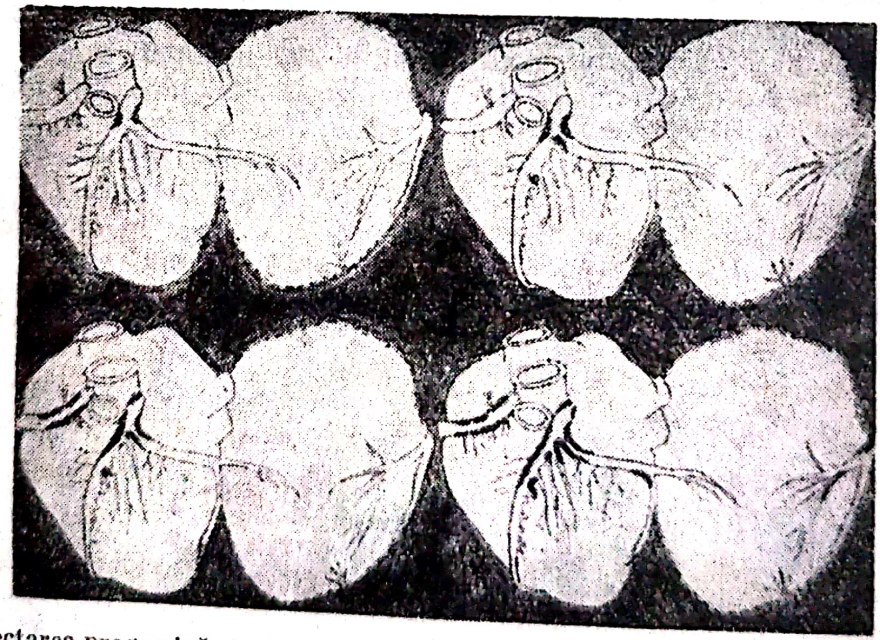


Fig. 81 **Afectarea progresivă a arterelor coronare cu plăci aterosclerotice, corelată cu înaintarea în vîrstă. La grupul 6—10 ani (stînga sus) plăcile se dezvoltă numai în coronara stîngă, la emergenţa descendentei anterioare; la grupul 11—15 ani (dreapta sus), plăcile se extind şi la emergenţa arterei circumflexe, primei ramuri diagonale şi primei ramuri septale; la grupul 16—20 ani (stînga jos) începe să fie afectat segmentul proximal al arterelor descendentă anterioară, circumflexă şi coronară dreaptă; în sfîrşit, la grupul 21—25 ani (dreapta jos), apar plăci aterosclerotice şi în segmentele intermediare ale arterelor menţionate, precum şi în zona paraostială a ramurilor descendentă posterioară, marginală dreaptă şi marginală stîngă.**

Scanned with OKEN Scanner

mara dreaptă şi că afectează nu numai zonele de emergenţă ci şi segmentele proximale ale arterelor, mai ales primii 20 mm de la emergenţă (*fig. 80*). La adulţii tineri apar plăci şi în ramurile principale ale arterelor coronare, cum ar fi diagonala I şi II, prima septală şi descendenta posterioară (*fig. 81*). Caracterul obstructiv limitat al plăcilor persistă, reducerea maximă întîlnită a lumenului fiind de 65%, fără semnificaţie clinică. În schimb, în timp ce la copii predomină aspectul fibros al plăcilor, la adolescent am întîlnit cel mai frecvent placa fibro-mucoidă, iar la adultul tînăr (21—25 ani), placa cu bogate acumulări lipidice, mai ales intracelulare (*fig. 82*).

Pe de altă parte, pînă la vîrsta de 25 de ani, nu apar leziuni complicate (trombozate, calcificate, ulcerate, hemoragice), nici aspecte de capilarizare a plăcilor dinspre lumen sau adventice. Subliniem în special absenţa trombozelor intraparietale sau suprapuse plăcilor, atît de frecvent întîlnite în arterele coronare de adulţi maturi sau de vîrstnici; în materialul examinat, tromboza nu pare a fi implicată nici în histogeneza leziunilor, nici în determinarea unui grad mai sever de evoluţie a acestor leziuni. Tot *la adulţii tineri am evidenţiat primele ateroame* (4% dintre cazurile analizate) cu bogat centru necrotic, dar fără o capsulă fibroasă superficială bine constituită.

La grupele de vîrstă 16—20 şi 21—25 de ani, nu am întîlnit aspecte microscopice care să sugereze conversiuni ale striurilor lipidice sau ale plăcilor gelatinoase în plăci fibroase, observaţiile noastre fiind limitate la arterele coronare şi bazilară. Aceasta sugerează că la copil, adolescent şi adultul tînăr, plăcile fibroase, striurile lipidice şi plăcile gelatinoase au mecanisme histogenetice independente. După cum am mai menţionat, la copil apariţia plăcilor fibroase rezultă din conversiunea anumitor perniţe intimale localizate în principalele zone de emergenţă ale arterei coronare stîngi. La adolescenţi şi adulţii tineri, această conversiune este mai puţin evidentă; în schimb apare un nou tip de modificare a intimei îngroşate pe care am denumit-o provizoriu „îngroşare intimală patologică" sau „preplacă". Microscopic se caracterizează printr-o intimă mai îngroşată decît în zonele din jurul preplăcii (între 250 şi 400 microni), acumulare importantă de mucopolizaharide acide, mai ales în zona subendotelială, histoliză în zonele mijlocie şi profundă şi alterări severe ale limitantei elastice interne. Unele îngroşări intimale patologice conţin şi proliferări nodulare ale celulelor musculare netede care ocupă şi o

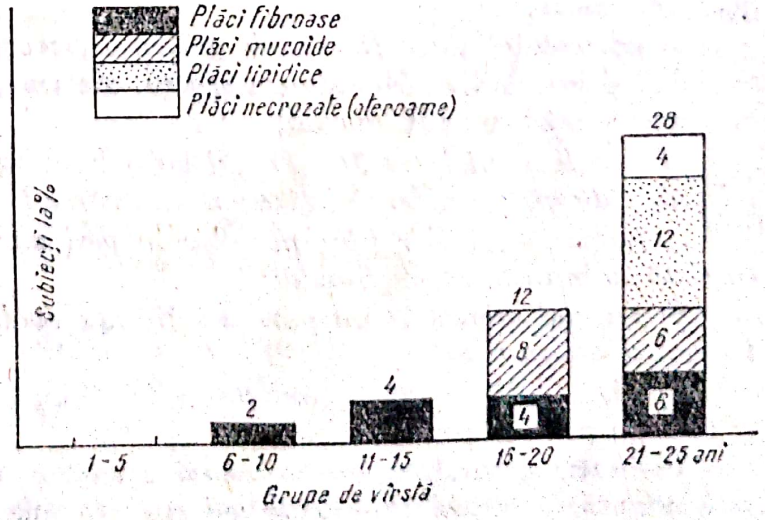


Fig. 82 Incidenţa diferitelor tipuri de plăci (fibroase, mucoide, lipidice, necrozate sau ateroame) evidenţiată în arterele coronare de copii, adolescenţi şi adulţi tineri.

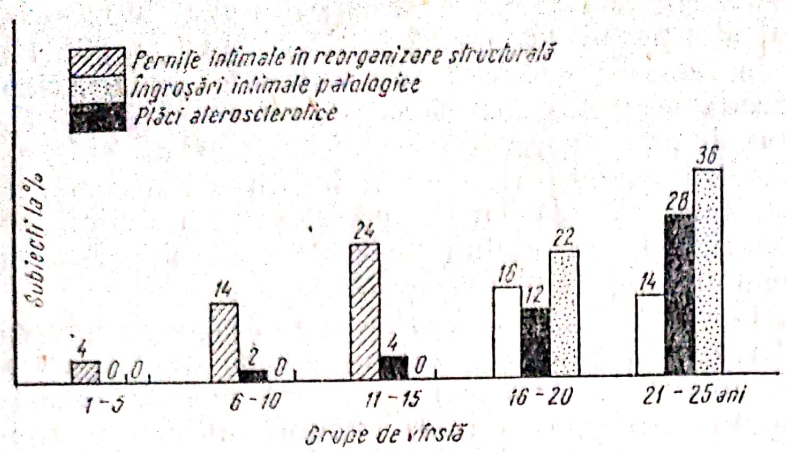


Fig. 83 Incidența aspectelor de reorganizare și omogenizare structurală a pernițelor intimale și a îngroșărilor intimale cu caracter patologic, evidențiate în arterele coronare de copii, adolescenți și adulți tineri.

parte din media subiacentă, precum și structuri fibrilare, cu reacții tinctoriale intermediare între colagen și elastină. Incidența îngroșărilor intimale evidențiată în materialul investigat, comparativ cu aspectele de conversiune a pernițelor intimale este menționată în *fig. 83*. Interceptarea evoluției spre plăci a îngroșărilor intimale patologice reprezintă probabil un moment important în profilaxia primară a aterosclerozei; această interceptare poate fi încercată, așa cum sugerează observațiile pe materialul nostru, începînd de la vîrsta de 15 ani.

Rezumînd rezultatele obținute din studiul efectuat în laboratorul de anatomie patologică și histochimie al Institutului de Medicină internă al Spitalului clinic Colentina, se pot desprinde următoarele date cu caracter aplicativ:

a) *copiii pînă la vîrsta de 5 ani nu au leziuni de ateroscleroză;*

b) *copiii între 6—10 ani prezintă, în proporție de 2%, plăci fibroase* localizate în principala ramificație a coronarei stîngi, bifurcația trunchiului comun în artera descendentă anterioară și artera circumflexă; aceste plăci rezultă din conversiunea unor pernițe intimale și nu au caracter obstructiv;

c) *copiii între 11—15 ani au, în proporție de 4%, plăci fibroase* în artera coronară stîngă (incluzînd și emergența primei ramuri septale și diagonale din descendenta anterioară), iar 6% dintre ei prezintă în plus striuri lipidice și plăci gelatinoase;

d) *adolescenții între 16—20 de ani au o frecvență de 12% a plăcilor* care se extind și în afara zonelor de emergență, afectează și coronara dreaptă și au un caracter predominant mucoid;

e) *adulții tineri între 21—25 ani au o frecvență de 24% a plăcilor aterosclerotice, devenind evidentă în leziuni încărcarea lipidică;*

f) *formarea plăcilor fibro-mucoide în perioada 16—20 de ani a putut fi corelată cu influența tabagismului;*

g) *regimul alimentar nu pare a influența evoluția plăcilor la copii, adolescenți și adulții tineri;*

h) *pînă la 25 de ani trombozele nu joacă un rol important în histogeneza și evoluția plăcilor aterosclerotice.*

În istoria naturală a aterosclerozei arterelor coronare, așa cum apare în țara noastră, *perioada 16—20 de ani este cea mai indicată pentru instituirea*

măsurilor de profilaxie primară a cardiopatiei ischemice, măsuri care trebuie să includă în primul rînd educarea adolescenţilor să nu înceapă să fumeze sau să renunţe la fumat.

2. FACTORII DE RISC

În cursul ultimilor ani detectarea factorilor de risc la copii şi adolescenţi a intrat în rîndul preocupărilor majore a numeroase colective de cercetare, aşa cum a rezultat şi din simpozionul cu tema „factorii de risc pentru ateroscleroză la copii" ţinut la Cluj-Napoca la 29 noiembrie 1977.

S-a propus următoarea clasificare a copiilor la risc (BLUMENTHAL 1973):

A. Copii cu hiperlipoproteinemii,
   1. primare (familiare şi nefamiliare),
   2. secundare (nefroză, hipotiroidism etc.).
B. Copii cu hipertensiune arterială.
C. Copii cu diabet.
D. Copii cu obezitate.
E. Copii ai căror părinţi au hiperlipoproteinemii, hipertensiune arterială „esenţială", diabet, infarct de miocard.

După cum se poate deduce din această clasificare, din cei peste 30 de factori de risc implicaţi în patogenia aterosclerozei la adult, numai patru sînt luaţi în consideraţie în perioada copilăriei, dintre ei impunîndu-se hipertensiunea arterială şi hipercolesterolemia.

Se apreciază că *hipertensiunea arterială* ar afecta 2—4% dintre copii (LONDE şi GOLDRING 1977), în timp ce rezultatele indicînd incidenţe pînă la 11% sînt contestate ca metodologie şi criterii de selecţie (KAPLAN şi col. 1978). Forma esenţială a hipertensiunii este mult mai rară la copii în comparaţie cu cea secundară şi ea apare mai ales la copiii provenind din părinţi cu hipertensiune esenţială. În anumite investigaţii se menţionează că dintre copiii cu hipertensiune esenţială aproximativ 50% sînt descendenţii unor pacienţi suferind de aceeaşi afecţiune; în plus, aproximativ 55% dintre copiii cu hipertensiune sînt şi obezi (LONDE 1977).

La noul născut presiunea arterială creşte de la 80,4 mm Hg la aproximativ 108 mm Hg, valoare întîlnită şi la sugarul de 1—3 luni. Apoi urmează o nouă creştere progresivă pînă la apariţia pubertăţii, sugerîndu-se că această creştere ar fi pentru presiunea sistolică de 2,6 mm Hg pe an la băieţi şi de 1,9 mm Hg pe an la fete, în timp ce presiunea diastolică ar creşte cu 1,3 mm Hg pe an la ambele sexe (LAUER şi col. 1975). S-au propus următoarele valori, primele considerate la limita superioară a normalului pentru vîrsta respectivă, ultimele considerate ca hipertensiune (LONDE 1977):

133 / 82 şi respectiv	138 / 86 la 14 ani (sex masculin);
137 / 85	141 / 98 la 15 ani (idem);
140 / 87	144 / 91 la 16—18 ani (idem);
128 / 83	132 / 87 pentru tinerele între 14—18 ani.

Sub vîrsta de 14 ani nu ar fi diferenţe semnificative ale presiunilor sistolice şi diastolice între băieţi şi fete, în timp ce după acest prag de 14 ani

Scanned with OKEN Scanner

valorile rămîn mai mici pentru ambele presiuni la sexul feminin. În general hipertensiuni cu valorile de la adult se întîlnesc foarte rar pînă la vîrsta de 9 ani (peste 140/90 mm Hg). Anumiţi autori susţin chiar că se poate vorbi de o hipertensiune ca factor de risc al aterosclerozei numai după vîrsta de 14—18 ani, perioadă în care 8,9% dintre subiecţi pot prezenta o hipertensiune sistolică, 12,2% hipertensiune diastolică şi 4,4% hipertensiune atît sistolică cît şi diastolică (LAUER şi col. 1975). Mai menţionăm constatarea că o presiune diastolică ce depăşeşte 85 mm Hg la un copil sub 10 ani este mai puţin un factor de risc al aterosclerozei cît un indiciu privind existenţa unui rinichi hidronefrotic sau a altor boli ce evoluau nesimptomatic (CARELLA şi SILBER 1976).

În aprecierea limitelor superioare ale presiunii arteriale se ia în consideraţie şi rasa, în Statele Unite copiii negri avînd în mod normal valori mai ridicate decît cei albi de vîrste similare, mai ales după ce au depăşit 10 ani (VOORS şi col. 1977 b). Această diferenţă a fost corelată cu cantitatea mai mare de sodiu din alimentaţia copiilor negri (FRANK şi col. 1978), precum şi cu influenţe de ordin genetic. În alte investigaţii tendinţa la hipertensiune a negrilor nu a putut fi detectată în primele două decenii de viaţă, ci numai la populaţia adultă (GOLDRING şi col. 1977).

În afară de vîrstă, sex şi rasă, valorile mai trebuie raportate şi la înălţimea subiectului şi la greutatea corporală. Anumite rezultate subliniază că aceşti ultimi doi factori pot influenţa valorile presiunii arteriale mai mult decît vîrsta (VOORS şi col. 1977 b). În special înălţimea corpului are o influenţă semnificativă asupra presiunii arteriale între 5 şi 14 ani. Din datele acumulate pînă acum rezultă în primul rînd necesitatea de a fi ţinuţi sub observaţie atentă şi repetată copiii şi adolescenţii care între 6—18 ani prezintă asocieri ale unei presiuni arteriale la limita superioară a normalului (sau intrată în valorile hipertensiunii), cu hipercolesterolemie şi obezitate. Mai rezultă, de asemenea, importanţa combaterii încă din copilărie a excesului de sare din alimentaţie, obezităţii şi sedentarismului, cu deosebire la copiii ce fac parte din familii de hipertensivi.

Semnificaţia unei *hipercolesterolemii* la copii este mai greu de interpretat, din punct de vedere al potenţialului aterogen, decît la adult. La naştere colesterolul total este în mod egal vehiculat în plasmă de α şi β -lipoproteine. La adult α-lipoproteinele vehiculează numai 1/4 din colesterolul total, iar β-lipoproteinele 2/3. Drept urmare raportul colesterol α-lipoproteine / colesterol β-lipoproteine, care este în jur de 1 la naştere poate ajunge la 1/4 la adult. Raportul lipoproteinelor α/β se modifică şi el de la 2,6±1,2 la copii la 1,3±0,7 la adolescenţi şi adulţii tineri (BERENSON şi col. 1974; SRINIVASAN şi col. 1975 b; GLUECK şi col. 1978; SRINIVASAN şi col. 1978).

Ignorarea existenţei unui *pattern* al lipoproteinelor particular fiecărei grupe de vîrstă, creează pericolul de a individualiza „valori anormale" sau chiar „boli" printr-o interpretare inadecvată a unor valori normale. O hipercolesterolemie evidenţiată la un copil poate avea semnificaţia unui factor de risc al aterosclerozei dacă sînt crescute valorile colesterolului din β -lipoproteine şi scăzute cele din α -lipoproteine. Dacă însă hipercolesterolemia reflectă o hiper α -lipoproteinemie, semnificaţia ei este inversă, constituind un factor de rezistenţă la ateroscleroză. Ar fi deci o greşeală ca un astfel de *pattern* constituţional să fie modificat prin intervenţie medicamentoasă sau dietetică, în

Scanned with OKEN Scanner

scopul reducerii respectivei hipercolesterolemii. În toate cazurile cînd apar incertitudini asupra originii hipercolesterolemiei, se impune evidenţierea raportului dintre colesterolul din α-lipoproteine şi colesterolul din β-lipoproteine.

Pentru o cît mai bună orientare în acest nou domeniu al biochimiei lipidelor, menţionăm că la nou născuţi şi sugari valorile medii ale colesterolemiei sînt de aproximativ 70 mg/100 ml (variaţii între 60—82 mg/100 ml), iar ale trigliceridemiei de 40 mg/100 ml (variaţii între 32—42 mg/100 ml). Colesterolul din lipoproteine are valori medii de 36 mg/100 ml în clasa α, 4 mg/100 ml în clasa pre β şi 30 mg/100 ml în clasa β. Traumatismele obstetricale, greutatea corporală la naştere, starea socio-economică, nu au nici un efect asupra acestor valori (CASTELLI şi col. 1977 a; FRERICHS şi col. 1978). Între naştere şi vîrsta de doi ani cresc: colesterolul total cu 129%, trigliceridele cu 68%, β-lipoproteinele cu 212%, pre β-lipoproteinele cu 81% şi α-lipoproteinele cu 64% (FRERICHS şi col. 1978). Există o corelare pozitivă a valorilor trigliceridelor cu pre β-lipoproteinele, în timp ce corelarea cu α-lipoproteinele are un caracter negativ, ambele tipuri de asocieri persistînd neschimbate la nou-născut, copil, adolescent şi adult. Un fapt de observaţie ce merită a fi subliniat este dependenţa parţială de tipul alimentaţiei a valorilor colesterolemiei începînd de la vîrsta de un an (TSANG şi col. 1975).

În studiul efectuat la Bogalusa, Louisiana, Statele Unite, pe copii în vîrstă între doi şi cinci ani s-au semnalat valori diferite ale colesterolemiei şi trigliceridemiei în funcţie de rasă. În timp ce la negrii predominau valorile mai ridicate ale colesterolului din α-lipoproteine, precum şi ale colesterolului total, la albii de vîrste similare s-au detectat valori mai ridicate ale trigliceridemiei şi ale pre β-lipoproteinelor (BERENSON şi col. 1978). Această diferenţă legată de rasă a mai fost evidenţiată şi la copiii de vîrstă şcolară, fiind menţionată o colesterolemie medie de 226 mg/100 ml pentru negri şi 210 mg/100 ml pentru albi, în timp ce trigliceridemia a fost de 105 mg/100 ml pentru negri şi 136 mg/100 ml pentru albi (de GROOT şi col. 1977).

Un studiu efectuat în Australia a inclus subiecţi între 10—18 ani de ambele sexe, împărţiţi într-un grup cu alimentaţia obişnuită a ţărilor cu standard de viaţă ridicat şi un al doilea grup cu alimentaţie exclusiv vegetariană. Valorile medii ale colesterolemiei au fost de 200±33 mg/100 ml la primul grup şi cu 20% mai reduse la al doilea. Tot la primul grup s-a constatat că 12% dintre băieţi şi 12,5% dintre fete aveau valori ale colesterolemiei egale cu sau peste 240 mg/100 ml (HICKIE şi RUYS 1975). Şi în alte lucrări se menţionează valori mai mici ale colesterolemiei la copiii din ţări subdezvoltate sau din regiuni rurale ale ţărilor dezvoltate, comparativ cu valorile din oraşele cu standard de viaţă ridicat. Aceste diferenţe variază între 25—50 mg/100 ml. S-au notat şi diferenţe între regiuni aparţinînd aceleiaşi ţări, evidenţiindu-se valori peste normal ale colesterolemiei la 13—15% din copiii din Vermont şi Iowa şi la 33% în Wiscosin (MELLIES şi col. 1974).

În afară de rasă, sex şi tipul alimentaţiei, vîrsta influenţează şi ea, într-o anumită măsură, valorile colesterolemiei la copil. Se menţionează mici scăderi după 10—12 ani, urmate de o nouă creştere odată cu apariţia maturităţii sexuale (McGANDY 1971; STARR 1971). Trigliceridemia are o evoluţie diferită, crescînd progresiv între 11 şi 17 ani.

Numărul subiecţilor identificaţi la risc poate fi mai mare sau mai mic în funcţie de valoarea convenţional stabilită a limitei de la care începe hiper-

colesterolemia. Într-un studiu în care limita a fost de 230 mg/100 ml, 5% dintre copiii de vîrstă şcolară au fost găsiţi sub influenţa acestui factor aterogen (FREDRICKSON şi col. 1971). În alte investigaţii sînt menţionate incidenţe ale subiecţilor la risc de 7% dacă valoarea limită a colesterolemiei era de 220 mg/100 ml (STARR 1971) şi de 14% (GODFREY şi col. 1972) sau chiar 24% cînd limita superioară era de 200 mg/100 ml (LAUER şi col. 1975). Atrage atenţia constatarea că 16,7% dintre copiii ai căror părinţi au avut infarct de miocard, prezentau valori ale colesterolemiei ce depăşeau 230 mg/100 ml, în timp ce la grupul fără antecedente de cardiopatie ischemică în familie proporţia era de 4,7% (HENNEKENS şi col. 1976). Din datele existente în literatură rezultă că o colesterolemie considerată normală pentru copiii de vîrstă şcolară poate varia între 95 şi 215 mg/100 ml, limite extrem de largi.

Detectarea hipercolesterolemiilor la copii are o importanţă deosebită pentru identificarea din timp a subiecţilor cu hipercolesterolemie familiară, predispuşi a face cardiopatie ischemică extrem de rapid, uneori înaintea vîrstei adulte.

F. REVERSIBILITATEA LEZIUNILOR DE ATEROSCLEROZĂ

1. DATE INTRODUCTIVE

Informaţii privind regresiunea plăcilor aterosclerotice au putut fi obţinute prin examene necropsice, investigaţii epidemiologice, arteriografii repetate corelate cu observaţii clinice. Aspectele cele mai demonstrative au rezultat din protocoalele necropsiilor efectuate la grupe de populaţii subnutrite şi la subiecţi în stare de caşexie. S-a atras atenţia asupra unei anumite scăderi a incidenţei şi severităţii leziunilor de ateroscleroză la sfîrşitul primului război mondial ca urmare a restricţiilor alimentare (ASCHOFF 1924). Observaţii similare s-au publicat şi după cel de al doilea război mondial cînd tot datorită restricţiilor alimentare valorile colesterolemiei au scăzut cu 15—25% iar examenele necropsice au evidenţiat o reducere considerabilă a suprafeţei arteriale afectată de leziuni (VARTIAINEN şi KANERVA 1947). S-au mai publicat numeroase observaţii ce aduceau dovezi indirecte privind reducerea incidenţei cardiopatiei ischemice şi a mortalităţii prin infarct de miocard după restricţii alimentare severe involuntare, apărute în condiţii accidentale. Nu s-a putut însă demonstra dacă efectul unui aport alimentar mult redus de grăsimi animale, uleiuri hidrogenate şi proteine s-a exercitat asupra plăcii aterosclerotice sau a împiedicat numai tromboza oclusivă terminală. În sfîrşit mai menţionăm aspecte de regresiune evidenţiate la pacienţi cu reumatism cardiac (JDANOV 1976) şi cancer (KAGAN 1976). Incidenţa plăcilor aterosclerotice a apărut în mod particular diminuată la pacienţii cu cancer gastric, uterin şi de glandă mamară (JDANOV şi VIKHERT 1975). S-au mai descris aspecte de regresiune după infecţii prelungite, ciroze hepatice, cancere de prostată tratate cu estrogeni etc.

În afara observaţiilor efectuate pe masa de autopsie, regresiunea leziunilor poate fi evidenţiată şi în cursul vieţii cu ajutorul examenelor arteriografice

Scanned with OKEN Scanner

repetate. Observaţiile cele mai numeroase privesc artera femurală la pacienţi cu claudicaţie intermitentă, aceste observaţii indicînd o reducere a diametrelor plăcii sub acţiunea tratamentelor instituite (OST şi STENSON 1964; CROWFORD şi col. 1974; BLANKENHORN 1975). Metodele au fost progresiv îmbunătăţite, putîndu-se efectua determinarea gradului de regresiune a leziunii prin estimări obţinute cu ajutorul computerilor (CEA: computer estimate of atherosclerosis); ele au permis să se constate reducerea diametrelor plăcii aterosclerotice din artera femurală paralel cu scăderea valorilor colesterolemiei şi trigliceridemiei, rezultatele cele mai demonstrative fiind obţinute la pacienţi cu hiperlipoproteinemie de tipul IV (BLANKENHORN şi col. 1978). Aspecte de regresiune a plăcilor aterosclerotice sînt menţionate şi după efectuare de *by-pass* ileal (BUCHWALD şi col. 1972). Pe de altă parte, la pacienţii la care s-au efectuat arteriografii repetate ale coronarelor după grefe de venă safenă pentru revascularizarea chirurgicală a miocardului nu s-au detectat aspecte de regresiune a leziunilor preexistente (LANDMANN şi col. 1976). Coronarografiile repetate au permis însă să se constate o regresiune spontană a leziunilor la unii pacienţi cu cardiopatie ischemică ce nu au fost supuşi *by-pass*-ului aortocoronarian, incidenţa acestora variind între 2,4% (GENSINI şi col. 1974) şi 5,7% (BRUSCHKE şi col. 1973). Anumite modificări observate tot cu ajutorul arteriografiilor repetate pledează şi pentru regresiunea plăcilor aterosclerotice din arterele cerebrale şi renale.

În sprijinul existenţei unui proces de regresiune a leziunilor de ateroscleroză este frecvent menţionată dispariţia xantoamelor la bolnavii cu hiperlipoproteinemii supuşi unui tratament adecvat. Eliminarea lipidelor din xantoame se face însă mult mai uşor decît din plăcile aterosclerotice, întrucît primele sînt vascularizate şi bogate în macrofage de tip histocitar, ultimele sînt avasculare iar capacitatea de fagocitoză a celulelor musculare netede este limitată. În plus, eliminarea lipidelor nu reprezintă totul în regresiunea aterosclerozei; în legătură cu acest subiect se citează în literatură cazul unei fete de 12 ani cu cardiopatie ischemică şi xantomatoză produse de o formă homozigotă a hiperlipoproteinemiei de tipul II A. După şuntul între vena portă şi vena cavă, dieta adecvată şi tratament intensiv, xantoamele au dispărut, valorile colesterolemiei au diminuat dar pacienta a decedat prin moarte cardiacă subită datorită tulburărilor de conducere intramiocardice (STARZL şi col. 1974). Lipsa de corelaţie între rata de dispariţie a xantoamelor şi cea a plăcilor aterosclerotice mai poate fi dedusă şi din timpul de înjumătăţire a colesterolului în fiecare din aceste leziuni. El apare de 1—2 săptămîni în xantoame faţă de 3—12 ani în plăcile aterosclerotice. În plus, placa mai conţine zone întinse de fibroză şi hialinizare, precum şi zone calcificate care măresc rezistenţa leziunii la factorii ce produc regresiunea, factori ce pătrund cu mare greutate într-un ţesut avascular. Plecîndu-se de la aceste constatări s-a sugerat că unul dintre mijloacele prin care s-ar putea activa regresiunea plăcilor aterosclerotice ar fi stimularea capilarizării lor. Aceasta ar permite un aflux de macrofage sanguine apte a degrada în produşi solubili componentele plăcii şi a le transporta în afara peretelui arterial. Drept urmare se consideră că apariţia regresiunii într-o placă este în mare parte dependentă de raportul macrofage sanguine / celule musculare netede, diminuarea diametrelor plăcii apărînd cu atît mai repede cu cît acest raport are valori mai mari. În plus, mai apare importantă parti-

Scanned with OKEN Scanner

ciparea α-lipoproteinelor la procesul de eliminare a colesterolului din leziune prin transfer sau schimb (ADAMS 1976, 1978).

În timp ce problema reversibilității plăcilor aterosclerotice continuă să fie un subiect controversat (STRONG 1978) este larg acceptată ideea reversibilității spontane a striurilor lipidice. Această dispariție este mai netă după pubertate și continuă în tot restul vieții. Ar fi potențial reversibile și edemul intimal și plăcile gelatinoase care nu au ajuns la un stadiu avansat de necroză. Importanța reversibilității acestor modificări pentru prevenirea aterosclerozei nu apare bine conturată atîta timp cît nu s-a demonstrat în mod convingător că ele ar reprezenta stadii incipiente de dezvoltare a plăcilor.

Dificultatea de a argumenta pe baza unor documente morfologice regresiunea plăcilor aterosclerotice din arterele de om, precum și greutatea investigării la om a mecanismelor implicate în producerea acestei regresiuni a stimulat utilizarea modelelor experimentale. În acest scop au fost folosite un număr impresionant de mare de animale de laborator, în special iepuri de casă, cîini, porci și maimuțe.

2. REGRESIUNE PRIN DIETE HIPOLIPEMIANTE

Investigațiile experimentale sînt bazate pe producerea, într-o primă etapă, a unor leziuni aterosclerotice severe prin diete bogate în colesterol, a doua etapă constînd în trecerea animalelor la diete sărace în colesterol și urmărirea în timp a regresiunii leziunilor. Corelația principală se face între aspectul microscopic al leziunilor, *pattern*-ul lor biochimic și valorile colesterolemiei.

Cu peste patru decenii în urmă ANICIKOV (1933) menționa că după trecerea iepurilor de la diete bogate la diete sărace în colesterol se producea o diminuare a încărcării lipidice a leziunilor apărute în artere. Ulterior s-au acumulat mai multe observații ce demonstrau un efect contrar, respectiv o creștere a severității leziunilor după eliminarea colesterolului din dietă (CHIȘIU 1965 b; CONSTANTINIDES 1965; ADAMS și col. 1976). Drept urmare metoda alternării dietelor bogate și sărace în colesterol a fost recomandată pentru a se obține, la iepurele de casă, potențarea evoluției leziunilor, creșterea severității lor și a încărcării lipidice. Această reacție paradoxală a fost explicată prin histogeneza diferită a leziunilor de ateroscleroză la iepurele de casă comparativ cu omul. La iepure aceste leziuni rezultă din secvestrarea în intima arterei a unor lipofage circulante, încărcate cu lipidele în exces din ganglioni limfatici, splină, ficat etc., în timp ce la om celulele care participă la histogeneza plăcilor sînt elementele musculare netede migrate din media în intima vasului (WISSLER și VESSELINOVITCH 1974). Acest mod paradoxal de răspuns al iepurelui la diete hipolipemiante a reieșit și din alte investigații experimentale; într-o astfel de experiență două loturi de iepuri au fost ținute la diete bogate în colesterol pînă la apariția leziunilor în aortă, respectiv o durată de trei luni. După aceste trei luni de experiment, unul dintre loturi a fost hrănit *ad-libitum* cu o dietă săracă în colesterol, iar al doilea lot a fost ținut într-o stare vecină înfometării, neprimind decît jumătate din dieta săracă în colesterol. După încă șase luni de experiment, sacrificarea animalelor a permis să se constate că leziunile erau mai întinse și mai severe la lotul al

doilea ce primise doar jumătate din dieta săracă în colesterol (ADAMS şi col. 1976). Aceste rezultate ar sugera că restricţiile alimentare severe pot exacerba evoluţia leziunilor de ateroscleroză prin stimularea considerabilă a sintezei endogene de colesterol, precum şi prin trecerea în circulaţie a colesterolului rămas liber prin degradarea membranelor celulelor adipoase din depozitele ce dispar în cursul procesului de slăbire forţată. Nu ar fi deci recomandabile slăbirile bruşte, pierderile masive în greutate într-un interval scurt de timp, din cauza aportului masiv de colesterol endogen furnizat de rezorbţia depozitelor de celule adipoase. Aşa cum am mai menţionat, elementele cu capacitate de lipoliză şi fagocitoză din ţesutul adipos sînt mult mai active sub aspectul eliminării lipidelor din ţesuturi decît celulele musculare din peretele arterial. Drept urmare aceeaşi cantitate de lipide este mai rapid rezorbită din ţesutul adipos sau din xantoame decît din placa aterosclerotică, ceilalţi parametri fiind similari (ADAMS şi col. 1975 a). Şi aceste observaţii sugerează că pătrunderea unui număr cît mai mare de macrofage sanguine în placa aterosclerotică ar favoriza regresiunea leziunii.

Un aspect evident de regresiune a depozitelor lipidice intraarteriale a fost obţinut la iepure dacă dieta hipolipemiantă a fost mai rapid instituită, într-un stadiu incipient de formare a leziunilor, respectiv după numai două sau trei săptămîni de dietă bogată în colesterol. Trecerea la dietă standard în momentul cînd hipercolesterolemia nu depăşise încă 1000 mg/100 ml a dus la o diminuare paralelă a suprafeţei arteriale afectate şi a valorilor colesterolemiei (BORTZ 1968). Ca aspect microscopic aceste leziuni incipiente se încadrau în grupul denumit „mici striuri lipidice" a căror semnificaţie în patologia aterosclerozei este neclară. Dispariţia acestor mici striuri lipidice după diete hipolipemiante a mai fost menţionată la numeroase alte animale de laborator; rezultatele anumitor lucrări sînt însă puse sub semnul întrebării atîta timp cît nu se cunoaşte cu certitudine cîte din aceste mici striuri lipidice ar putea regresa spontan, ca o programare genetică ce pare neinfluenţată de schimbările dietei.

La cîine, după ablaţia tiroidei şi diete bogate în colesterol apar leziuni complicate, cu evoluţie aparent severă, mai ales dacă dieta aterogenă se prelungeşte timp de un an sau mai mult. Administrarea în continuare a unei diete hipolipemiante timp de 8—14 luni a fost urmată, în anumite investigaţii, de o regresiune semnificativă a leziunilor (BEVANS şi col. 1951). În alte studii dieta hipolipemiantă, conţinînd doar 0,05% colesterol, administrată timp de 60 de luni nu a determinat regresiunea plăcilor din aortă, iar valorile colesterolemiei au variat între 235—587 mg/100 ml (DePALMA şi col. 1977). Se crede că pentru obţinerea reducerii diametrului leziunilor şi a conţinutului lor lipidic sînt necesare diminuări ale colesterolemiei sub 230 mg/100 ml, scăderi greu de realizat numai cu dieta hipolipemiantă.

Un model experimental mult recomandat pentru studiul regresiunii plăcilor aterosclerotice îl reprezintă leziunile apărute la porci sub acţiunea dietelor bogate în colesterol şi a agresiunilor mecanice sau/şi chimice ale peretelui arterial. Aceste leziuni iau aspectul plăcilor complicate cu necroză, microhemoragii, calcificare şi tromboză, mai ales la nivelul aortei abdominale. După trecerea animalelor la diete fără colesterol se menţionează diminuarea diametrelor plăcilor, dispariţia necrozei şi a microhemoragiilor şi chiar a trombozei şi calcificărilor (FRITZ şi col. 1976; DAOUD şi col. 1977). După 14 luni de la înlocuirea dietei aterogene cu o dietă hipolipemiantă, anumite leziuni par

Scanned with OKEN Scanner

să fi regresat complet, iar peretele arterial își reia microarhitectura inițială. În alte leziuni regresiunea este doar parțială, dar ea se asociază cu o reducere considerabilă a cantității de esteri de colesterol, de la 11 μg/mg greutate uscată a aortei în momentul trecerii la dieta hipolipemiantă, la 4—6 μg/mg după administrarea dietei (FRITZ și col. 1976). Dacă plăcile aveau un conținut bogat în fibre de colagen, după dispariția lipidelor intima rămîne cu aspectul de placă fibroasă. Aceste observații experimentale au sugerat ideea că și la om anumite plăci fibroase ar rezulta din regresiunea plăcilor fibro-mucoido-lipidice.

Numeroase studii privind reversibilitatea leziunilor de ateroscleroză au fost efectuate și pe maimuțe, considerate a reprezenta modelul experimental cel mai apropiat de patologia umană. Se susține că la aceste animale se poate prezice cu certitudine nu numai apariția leziunilor după opt săptămîni de dietă aterogenă (40% din calorii din unt, 40% din glucide, 20% din cazeină), ci și momentul regresiunii leziunilor care poate fi evidențiat la 16 săptămîni de la trecerea la o dietă hipolipemiantă (TUCKER și col. 1971). Date demonstrative în acest sens sînt furnizate de investigații în care s-a determinat comparativ suprafața afectată de leziuni sub efectul dietelor aterogene și hipolipemiante. După 8 săptămîni de dietă aterogenă suprafața aortică lezată a fost de 17—36%, la 12 săptămîni de 29—57%, iar la 40 de săptămîni de 35—69%. Trecerea la dieta hipolipemiantă a făcut să scadă suprafața afectată cu leziuni de la 57% pînă la 15%, sau de la 29% pînă la 9% (STRONG și col. 1977). Concomitent s-a produs o revenire la normal a valorilor colesterolemiei ce a oscilat între 320—560 mg/100 ml în perioada formării leziunilor și o scădere semnificativă și a conținutului lipidic din leziuni, mai ales a esterilor de colesterol. S-a mai produs scăderea ratei de multiplicare a celulelor musculare netede din intimă, rezultînd și o reducere a gradului de îngroșare intimală. În alte investigații dieta aterogenă conținînd 1,74% colesterol și 21,74% mixtură în cantități egale de ulei de nucă de cocos și unt, a fost administrată maimuțelor timp de 18 luni. Colesterolemia a crescut de la 175 mg/100 ml la începutul experimentului, la 840 mg/100 ml la sfîrșitul perioadei de administrare a dietei aterogene. Concomitent cu această mărire de aproximativ cinci ori a valorilor colesterolemiei s-a produs și o creștere a raportului lipoproteinelor β/α, de la 0,93 la 3,0. Cînd valorile colesterolemiei și ale raportului menționat au atins nivelul cel mai ridicat, aorta maimuțelor era afectată de leziuni pe 81—88% din suprafața sa. Trecerea ulterioară a animalelor la o dietă conținînd ca lipide doar 4,35% ulei de porumb, a fost urmată de normalizarea raportului dintre lipoproteine și a valorilor colesterolemiei, precum și de o reducere, cu aproximativ 2/3, a suprafeței aortice afectată de leziuni (VESSELINOVITCH și col. 1976). Anumite plăci au continuat totuși să persiste, dar ele prezentau un grad mai redus de severitate decît în momentul instituirii dietei hipolipemiante. S-a putut observa o diminuare considerabilă a acumulărilor intra- și extracelulare de lipide, a zonelor necrotice și chiar a capsulelor fibroase ce acoperă plăcile, toate pledînd pentru reversibilitatea leziunilor. Aspecte similare de reversibilitate au fost observate și în arterele coronare, ridicînd astfel valoarea modelului experimental oferit de maimuțele Macaca mulatta (rhesus). Se insistă asupra faptului că unele dintre plăcile din arterele coronare care au regresat aveau un caracter net obstructiv. Mai menționăm, din rezultatele acestei investigații, faptul că scăderea lipidelor din leziunile arterelor coronare, de la 51 mg/g substanță uscată la 18 mg

Scanned with OKEN Scanner

sau chiar mai puțin, nu afectează omogen toate clasele de lipide, dispărînd 69% din cantitatea de colesterol liber preexistent și 53% din colesterolul esterificat. În perioada regresiunii poate deci să apară o îmbogățire a anumitor plăci cu esteri de colesterol datorită eliminării masive a colesterolului liber. Această schimbare a *pattern*-ului biochimic a fost evidențiată și în alte lucrări, fiind considerată ca un test al procesului de regresiune și denumită „cicatrice biochimică" (ARMSTRONG și col. 1978). Diferitele specii de maimuțe pot prezenta grade variate de reversibilitate la administrarea aceleiași diete aterogene și apoi hipolipemiante, în funcție de patrimoniul genetic în enzime capabile să sintetizeze și să hidrolizeze esterii de colesterol, de patrimoniul genetic în α-lipoproteine apte să elimine din leziune excesul de colesterol etc. (ARMSTRONG și MEGAN 1974; SRINIVASAN și col. 1976 b).

Mecanismul regresiunii nu este încă bine cunoscut. Din punct de vedere morfologic regresiunea ar începe cu degradarea protoplasmei celulelor spumoase, care pot dispare total din leziune; ulterior încep să fie eliminate resturile necrozate și rețelele de fibrină. Toate aceste procese rezorptive au loc în absența dezvoltării unui țesut de granulație, celulelor gigante, neocapilarelor, proliferării celulelor musculare netede. În funcție de gradul regresiunii și de particularitățile structurale ale leziunii în momentul începerii regresiunii, zona în care se găsea placa aterosclerotică poate apare sub aspectul unei: *a*) intime normale; *b*) intimă îngroșată; *c*) intimă îngroșată și fibrozată; *d*) intimă cu mici cavități conținînd material necrozat (STARY 1974; STARY și col. 1975; STARY 1977). De subliniat absența proliferării celulelor musculare netede din jurul plăcilor ce involuează, precum și raritatea imaginilor microscopice și electronomicroscopice de fagocitoză, cu toată prezența unor mari cantități de produși de degradare.

Tot în legătură cu modelul experimental realizat pe maimuțe menționăm și experimentul în care s-a obținut o reversibilitate a leziunilor menținîndu-se valori relativ ridicate ale colesterolemiei. Prin dieta administrată colesterolemia a atins nivelul considerat în Statele Unite la limita superioară a normalului, avînd deci un anumit grad de aterogenicitate. Dacă în alimentația maimuțelor s-a introdus pudră de alfalfa (25% din conținutul dietei), leziunile au regresat și nu au apărut leziuni noi (MALINOW și col. 1978). Rezultatele obținute s-ar datora excreției masive a steroizilor din intestin, interferîndu-se, prin prezența unei mari cantități de fibre nedigerabile, absorbția colesterolului din dietă.

În încheiere subliniem și constatarea că dietele hipolipemiante pot induce regresiunea leziunilor de ateroscleroză la șobolan chiar în prezența unei hipertensiuni arteriale (KOLETSKY și PUTERMAN 1977).

3. REGRESIUNE PRIN MEDICAȚIE HIPOLIPEMIANTĂ

Date amănunțite asupra acestei medicații au fost prezentate în capitolul IV, incluzînd atît rezultatele studiilor clinice și epidemiologice, cît și ale investigațiilor experimentale. Folosirea acestei medicații în asociere cu dieta hipolipemiantă urmărește reducerea cît mai drastică a valorilor colesterolemiei și trigliceridemiei. Se susține că la om regresiunea plăcilor nu ar apare atîta timp cît valorile colesterolemiei s-ar menține peste 150 mg/100 ml (WISSLER 1976). Pentru obținerea unei scăderi atît de marcate se impune asocierea dietei

Scanned with OKEN Scanner

hipolipemiante cu medicația hipolipemiantă în toate cazurile la care simpla schimbare a alimentației în sens antiaterogen nu a dat rezultatele dorite.

La maimuțele supuse dietei bogate în colesterol au apărut leziuni pe 62—84% din suprafața aortei; dacă s-a administrat concomitent și 2,5% colestiramină, suprafața afectată cu leziuni a fost de numai 31%. Cu o dietă mai săracă în colesterol leziunile au cuprins numai 23% din suprafața aortei, iar administrarea concomitentă a colestiraminei a diminuat această suprafață la 10%. Cantitatea de colesterol din aorta cu leziuni a fost de 24,5 mg/g substanță uscată la lotul supus dietei bogate în colesterol, 5 mg/g la cel supus dietei bogate în colesterol și cu colestiramină, 4,6 mg/g la lotul cu dietă mai săracă în colesterol și 4,1 mg/g la lotul cu dietă săracă în colesterol și cu colestiramină (WISSLER și col. 1975). Efectul hipolipemiant al medicației apare astfel clar demonstrat atît sub raportul suprafeței afectate cît și al conținutului lipidic al leziunilor.

Porcii supuși unei diete bogate în colesterol au prezentat o hipercolesterolemie de 380 mg/100 ml după un interval de aproximativ 17 luni; dacă acestei diete i se substituia o alimentație săracă în lipide, colesterolemia scădea la 180 mg/100 ml, iar adăugarea de clofibrat reducea valorile colesterolemiei pînă la 90 mg/100 ml (FRITZ și col. 1975). S-a constatat că dieta săracă în lipide saturate și colesterol diminua capacitatea de proliferare a celulelor musculare netede din plăcile aterosclerotice și capacitatea de sinteză a colagenului, dar nu influența conținutul lipidic al leziunilor; adăugarea de clofibrat a favorizat și eliminarea lipidelor din leziuni. Aspecte similare de reducere a conținutului lipidic s-au notat și sub acțiunea acidului nicotinic și a derivaților săi (KRITCHEVSKY 1971 b). Acidul nicotinic ar avea, în special, capacitatea de a potența esterazele cu acțiune hidrolitică din lizozomii celulelor musculare netede, făcînd să se schimbe raportul sinteză / degradare a esterilor de colesterol în favoarea degradării (KRITCHEVSKY și col. 1975). Alte substanțe hipolipemiante, cum ar fi fosfatidilcolina polinesaturată modifică acest raport în favoarea degradării, inhibînd enzimele ce sintetizează esterii de colesterol (HOWARD și col. 1971). Un alt mod de acțiune specifică a anumitor medicamente hipolipemiante îl constituie inhibarea receptorilor specifici pentru β-lipoproteine prezenți pe suprafața celulelor musculare netede (PAOLETTI 1977). Alte substanțe ar fi capabile să inhibe sinteza de β-lipoproteine, avînd acțiuni specifice hipo-β-hipolipemiante (DAY și col. 1976).

Dipiridinolcarbamatul ar acționa prin intermediul relaxării celulelor endoteliale contractate, rezultînd o scădere a permeabilității endoteliale pentru lipoproteine și fibrinogen (SHIMAMOTO 1975 c). El ar mai avea și capacitatea de a inhiba aderarea și agregarea trombocitelor pe suprafața endotelială. Reversibilitatea leziunilor s-a produs și prin administrarea unor substanțe apropiate ca structură de piridinolcarbamat și care inhibă tromboxanul A_2 (SHIMAMOTO 1977). Rezultate negative după folosirea piridinolcarbamatului pentru reversibilitatea leziunilor de ateroscleroză experimentală sînt menționate la maimuțe (MALINOW și col. 1968), iepure de casă (MOTTONEN și col. 1972 etc.

Aspecte de regresiune a plăcilor aterosclerotice au fost descrise și după adăugarea de condroitin 4-sulfat, în concentrație de 1% în dieta administrată la șobolani. Sub acțiunea acestui mucopolizaharid acid s-a produs dispariția leziunilor preexistente în aortă și arterele coronare, rămînînd doar zone

Scanned with OKEN Scanner

cicatriciale bogate în fibroză şi calciu (MORRISON şi col. 1972). Rezultate spectaculare sînt descrise şi la maimuţe, după administrarea condroitin sulfatului 6 zile pe săptămînă 20 mg pe animal timp de 90 de zile; dacă administrarea precedă dieta aterogenă, se previne chiar formarea leziunilor (MORRISON şi col. 1974).

Mai menţionăm regresiunea aterosclerozei experimentale a iepurelui după aport masiv de oxigen. În timp ce hipoxia este considerată un factor aterogen, hiperoxia ar acţiona în sens contrar, reducînd conţinutul lipidic al leziunilor constituite (KJELDSEN şi col. 1969). Capacitatea antiaterogenă a hiperoxiei este amplificată dacă i se asociază tratamente cu estrogeni şi cu colestiramină (VESSELINOVITCH şi col. 1974).

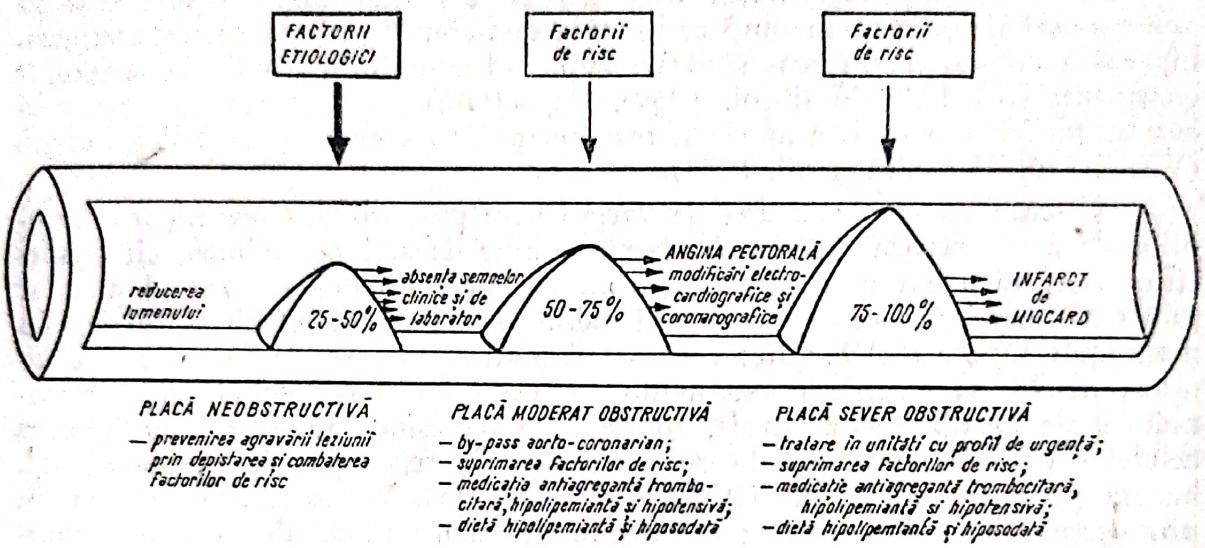
Existenţa unor factori atît de variaţi care pot produce regresiunea leziunilor de ateroscleroză sugerează atît mecanisme de acţiune comune, cît şi specifice fiecărui agent în parte. Dintre mecanismele comune pe primul plan ar putea fi implicată restabilirea unei permeabilităţi endoteliale normale. La maimuţele supuse dietelor aterogene s-a constatat, în faza de formare a leziunilor, deschiderea largă a joncţiunilor dintre celulele endoteliale şi discontinuităţi ale membranelor bazale. În faza de regresiune reapare interdigitarea celulelor endoteliale în zonele de joncţiune iar structurile de tip membrană bazală prezintă reduplicări (JONES şi col. 1973). De asemenea în faza de producere a leziunilor au fost evidenţiate eroziuni endoteliale care se reendotelizează în faza de regresiune. Aceste observaţii au fost efectuate atît pe maimuţe (WEBER şi col. 1977), cît şi pe iepuri (WEBER şi col. 1974). Procesul de reendotelializare al eroziunilor ar apărea cu atît mai repede şi ar fi cu atît mai eficient cu cît valorile colesterolemiei sînt mai rapid coborîte, împreună cu cele ale β-lipoproteinelor. Prin refacerea endoteliului se restabileşte o permeabilitate normală, diminuînd cantitatea de macromolecule de β-lipoproteine pătrunse în intima îngroşată, macromolecule ce incită proliferarea celulelor musculare netede, sinteza de colagen şi activitatea enzimelor lizozomale ce esterifică colesterolul (WISSLER şi VESSELINOVITCH, 1978).

Regresiunea poate fi împiedicată prin factori locali acţionînd la nivelul plăcii ca: *a*) inerţia metabolică a colesterolului liber şi esterificat depozitat în leziune; *b*) cantitatea redusă de α-lipoproteine care ajunge la placă spre a elimina colesterolul; *c*) insolubilitatea cristalelor de colesterol. În absenţa macrofagelor, aceste cristale par a fi dizolvate numai în condiţiile unui aflux mai mare de α-lipoproteine, aceste macromolecule creînd condiţiile fizico-chimice locale necesare dizolvării colesterolului cristalizat (ADAMS şi ABDULLA 1978). Tot în prezenţa unui aflux de α-lipoproteine poate creşte şi rata de catabolizare a esterilor de colesterol, care în anumite plăci a fost apreciată la peste 12 ani (BROWN şi FRY 1978).

Problema găsirii mijloacelor celor mai eficace şi mai puţin nocive pentru a produce regresiunea leziunilor de ateroscleroză rămîne un subiect central de preocupare pentru numeroase colective de cercetare. Oricît de mari ar fi însă aceste eforturi, datorită capacităţii reduse de a degrada esterii de colesterol cu ajutorul hidrolazelor lizozomale ale celulelor musculare netede, datorită prezenţei în plăcile aterosclerotice a unui ţesut de fibroză, frecvent calcificat, a unor mase necrozate, precum şi datorită absenţei macrofagelor şi capilarelor sanguine, nu ne putem aştepta la rezultate spectaculare pe această linie de intervenţie terapeutică. *De aceea accentul principal trebuie pus pe prevenire.*

Scanned with OKEN Scanner

În *fig. 84*, prezentăm unele indicaţii cu caracter practic, privind posibilitatea de a interveni în cursul istoriei naturale a aterosclerozei cu scopul obţinerii regresiunii plăcilor sau a opririi evoluţiei lor spre forme obstructive, reducîndu-se astfel numărul de subiecţi cu manifestări clinice de cardiopatie ischemică, accidente vasculare cerebrale şi arteriopatii periferice.



PLACĂ NEOBSTRUCTIVĂ
— prevenirea agravării leziunii prin depistarea şi combaterea factorilor de risc

PLACĂ MODERAT OBSTRUCTIVĂ
— by-pass aorto-coronarian;
— suprimarea factorilor de risc;
— medicaţia antiagregantă trombocitară, hipolipemiantă şi hipotensivă;
— dietă hipolipemiantă şi hiposodată

PLACĂ SEVER OBSTRUCTIVĂ
— tratare în unităţi cu profil de urgenţă;
— suprimarea factorilor de risc;
— medicaţie antiagregantă trombocitară, hipolipemiantă şi hipotensivă;
— dietă hipolipemiantă şi hiposodată

Fig. 84 **Posibilităţi actuale de profilaxie şi tratament a cardiopatiei ischemice, corelată cu inhibarea evoluţiei spre forme obstructive a plăcii aterosclerotice.**

Scanned with OKEN Scanner

VI. ETIOPATOGENIA ATEROSCLEROZEI ÎN LUMINA DATELOR DE PATOLOGIE COMPARATĂ ȘI EXPERIMENTALĂ

A. PATOLOGIA COMPARATĂ

1. DATE CU CARACTER GENERAL

a. LEZIUNILE DE ATEROSCLEROZĂ

Cercetările de patologie comparată din ultimele decenii au oferit un bogat material documentar din care rezultă larga răspîndire a formei spontane a aterosclerozei în regnul animal. În special trecerea pe scara filogenetică de la reptile la păsări, respectiv de la vertebratele poikiloterme la cele homeoterme, se însoţeşte de o creştere considerabilă a incidenţei şi severităţii leziunilor. Datele din literatură menţionează leziuni de ateroscleroză cu o incidenţă generală variind între 32—74% la păsări şi 12—55% la mamifere. Într-un studiu efectuat de Institutul de patologie comparată al universităţii din Oklahoma, în colaborare cu grădina zoologică din Oklahoma au fost investigate, timp de peste cinci ani, peste 400 de animale aparţinînd la 162 de specii. Plăcile fibroase au fost evidenţiate la 92% dintre pinipede, 58% dintre păsări, 47% dintre copitate, 35% dintre carnivore şi 18% dintre maimuţe (STOUT şi BOHORQUEZ 1974). Striurile lipidice au apărut cu o incidenţă de 86% la păsări, 58% la maimuţe, 51% la copitate, 26% la insectivore, edentate şi marsupiale şi 13% la carnivore. La unele specii erau prezente doar striuri lipidice, la altele doar plăcile fibroase; la unele specii striurile apăreau înaintea plăcilor fibroase, la altele în urma lor. Ca şi la om, atît la păsări, cît şi la mamifere topografia striurilor lipidice pare a fi diferită de aceea a plăcilor fibroase şi nu s-au putut evidenţia forme intermediare, de tranziţie, ce ar sugera conversiunea striurilor în plăci (STOUT şi BOHORQUEZ 1974). Într-un studiu efectuat pe 86 de copitate se menţionează prezenţa striurilor lipidice la nou-născuţi, inclusiv la cei ce au murit înainte de a fi hrăniţi de mamă. Colesterolemia mamelor acestor nou-născuţi a variat între 101—150 mg/100 ml, absenţa unei hipercolesterolemii materne ridicînd numeroase semne de întrebare asupra histogenezei şi semnificaţiei acestor apariţii precoce a striurilor lipidice (STOUT şi BOHORQUEZ 1969).

Examenul anatomo-patologic, macro şi microscopic, al diferitelor animale aparţinînd numeroaselor specii investigate, a dus la concluzia că *placa fibroasă*

Scanned with OKEN Scanner

este leziunea „prototip" a aterosclerozei nu numai la om, ci şi la animalele care fac boala în mod spontan.

Aceste plăci se dezvoltă numai în intime în prealabil îngroşate, demonstrîndu-se astfel că atît la om, cît şi la mamifere şi păsări, îngroşarea intimei reprezintă un stadiu premergător apariţiei plăcilor. La numeroase specii de animale s-au descris stadii intermediare între intima îngroşată şi placa aterosclerotică (VASTESAEGER şi DELCOURT 1962; CUCU 1974). Dintre mamifere, incidenţa cea mai mare a îngroşărilor intimale a fost evidenţiată la maimuţe, mai ales la cele antropoide, unde pot fi observate modificări pre şi postnatale similare celor descrise la om. La unele specii de animale îngroşările intimale apar în special în perioada de reproducere. Formarea plăcilor în intimele îngroşate este rezultatul unor proliferări nodulare ale celulelor musculare netede, incluzînd numeroase fibre de colagen. Majoritatea plăcilor afectează aorta şi ramurile ei principale de tip elastic; în schimb arterele coronare sînt rareori sediul apariţiei leziunilor. Astfel, într-un studiu efectuat pe 1 300 vertebrate homeoterme, se semnalează doar o incidenţă de aproximativ 2% a afectării aterosclerotice spontane a arterelor coronare (VASTESAEGER 1968). În investigaţia menţionată de la Oklahoma, incidenţa afectării arterelor coronare cu leziuni aterosclerotice a fost de 6,5%, proporţia mai mare datorîndu-se includerii printre leziuni şi a modificărilor observate în vasele intramiocardice (STOUT şi BOHORQUEZ 1974). Totuşi chiar această incidenţă de 6,5% este extrem de redusă în comparaţie cu 100% la adulţii din ţările industrializate. S-a mai constatat că plăcile aterosclerotice din arterele coronare de păsări şi mamifere nu ating stadiul de leziune complicată şi nu produc obstrucţii ale lumenului vasului, importante din punct de vedere clinic; în consecinţă, la aceste animale nu au fost observate cicatrici de infarcte de miocard. Subliniem, de asemenea şi raritatea leziunilor de ateroscleroză în arterele cerebrale ale păsărilor şi mamiferelor; un studiu amănunţit efectuat asupra poligonului lui Willis la maimuţe a evidenţiat prezenţa acestor leziuni doar la 2 din cele 80 de animale investigate (STOUT şi BOHORQUEZ 1974). Tromboza arterială este extrem de rară la păsări şi mamifere, absenţa ei fiind menţionată la animale cu o afectare de peste 2/3 a suprafeţei arteriale, precum şi în prezenţa leziunilor ulcerate sau complicate cu anevrisme. Raritatea trombozei a fost corelată cu lipsa efectelor nocive exercitate de anumiţi factori de risc ce acţionează asupra leziunilor aterosclerotice de la om.

b. FACTORII DE RISC LA PĂSĂRI ŞI MAMIFERE

Perspectivele studiului acestor factori au apărut deosebit de atractive, plecîndu-se de la constatarea că „izbucnirea" aterosclerozei la păsări, în comparaţie cu reptilele, se asociază cu dublarea sau triplarea valorilor presiunii arteriale şi ale colesterolemiei. Acestor creşteri li se putea „imputa" incidenţa de 10—12 ori mai mare a leziunilor de ateroscleroză la vertebratele homeoterme în comparaţie cu cele poikiloterme. Dacă în general asocierea unei incidenţe crescute a leziunilor de ateroscleroză cu valori ridicate ale presiunii arteriale şi colesterolemiei pare de necontestat, această asociere devine mai puţin evidentă în studiile efectuate pe specii sau grupe de animale. Astfel apar frecvent plăci fibroase la maimuţe vegetariene avînd colesterolemia sub 100 mg/100 ml şi mult mai rar la gorile şi cimpanzei, cu o colesterolemie variind între 350 şi 450 mg/100 ml. Nu au leziuni de ateroscleroză broaştele

Scanned with OKEN Scanner

țestoase bătrîne, cu o colesterolemie de 355 mg/100 ml, la care 93% din colesterolul total este vehiculat de β-lipoproteine. De asemeni, s-a notat absența leziunilor de ateroscleroză la unele păsări avînd o colesterolemie de 462 mg/100 ml și la care 52% din colesterolul total era vehiculat de β-lipoproteine (rață lopătar), sau o colesterolemie de 434 mg/100 ml cu 94% din colesterolul total vehiculat de β-lipoproteine (porumbelul Show Racer). Numeroase alte exemple sînt menționate în literatură demonstrînd că atît la mamifere, cît și la păsări există specii la care nu se pot face asocieri între prezența leziunilor de ateroscleroză și valorile colesterolemiei (VASTESAEGER 1968).

Nici modul de alimentație nu pare a juca un rol aterogen evident în patologia comparată. Mamiferele care consumă o mare cantitate de colesterol și acizi grași saturați și de proteine animale (felinele) fac mult mai rar plăci aterosclerotice în comparație cu cele care consumă numai grăsimi nesaturate de pește (balenă, focă, morsă) sau decît anumite păsări care se hrănesc tot numai cu acizi grași nesaturați (pinguin). Pe de altă parte, deși se hrănesc în tot cursul vieții cu o dietă vegetariană și au un nivel foarte coborît al colesterolemiei, anumite specii de maimuțe fac frecvent plăci aterosclerotice. Considerăm însă că exemplul cel mai demonstrativ din acest punct de vedere îl reprezintă balena, cu o colesterolemie în jur de 180 mg/100 ml și un raport între lipoproteinele α și β cu valori constante în favoarea lipoproteinelor α. Alimentația balenei include proteinele și lipidele furnizate de pești, predominînd acizii grași nesaturați, care dealtfel esterifică și colesterolul din leziuni. Deși are un nivel al colesterolemiei considerat neaterogen, deși raportul dintre lipoproteinele α și β este de asemenea de tip neaterogen, deși consumă toată viața numai acizi grași nesaturați, balena face frecvent plăci aterosclerotice. Leziunile apar atît sub aspectul plăcilor fibroase cît și al ateroamelor, afectînd aorta, arterele coronare și alte teritorii vasculare (HASHIMOTO și col. 1967). Un alt exemplu în același sens este tonul (thynnus thynnus), studiile fiind centrate în special asupra speciilor ce trăiesc în golful Biscaia. Cu o colesterolemie între 0,56 și 0,90 mg/100 ml și cu o alimentație compusă numai din grăsimi nesaturate și proteine de pește, tonul face relativ frecvent plăci aterosclerotice în aortă, leziuni cu bogat conținut lipidic.

Singurul factor de risc din patologia umană care pare a juca un rol important și în patologia comparată a aterosclerozei este tensiunea nervoasă, în special cea creată de condițiile de captivitate. Sub influența acestui stres s-au notat creșteri ale colesterolemiei și ale β-lipoproteinelor, îngroșări intimale mai severe și mai difuze și plăci fibroase mai numeroase (VLODAVER și col. 1969 b). Tot în captivitate s-au putut evidenția și leziuni cu caracter stenozant, mai ales la animale tinere, fiind impresionante în special plăcile obstructive ce se dezvoltă în arterele coronare și cerebrale ale cimpanzeilor. Aceste leziuni apar la niveluri coborîte ale colesterolemiei și presiunii arteriale, histogeneza lor neputînd fi prevenită dacă animalele sînt ținute la diete lipsite de colesterol și acizi grași saturați.

Parcurgînd literatura privind ateroscleroza comparată apare în mod evident și importanța determinismului genetic în apariția unui teren rezistent sau susceptibil la formarea leziunilor. Anumite particularități metabolice, care contribuie la această rezistență sau susceptibilitate, au început să fie cunoscute și vor fi prezentate în paginile următoare, studiile cele mai valoroase din acest punct de vedere fiind efectuate pe porumbei.

Scanned with OKEN Scanner

În încheierea acestor date cu caracter general, menționăm că animalele care fac spontan plăci aterosclerotice pot prezenta modificări ale acestor plăci dacă sînt supuse la diete bogate în colesterol și acizi grași saturați. Principala modificare o constituie apariția unei componente lipidice a leziunilor, plăcile pur fibroase devenind plăci fibro-lipidice. Dacă acumularea de lipide duce la necroza celulelor musculare, formarea centrilor necrotici transformă placa fibroasă în aterom. Apariția unei hipertensiuni arteriale experimentale la animalele cu plăci fibroase dezvoltate în mod spontan se asociază cu creșterea numărului plăcilor, cu extinderea lor și în teritorii arteriale aparent neafectate la animalul normotensiv, precum și cu o îngroșare intimală mai severă și mai difuză, fără a crește însă conținutul lipidic al leziunilor. Dacă hipertensiunea arterială se asociază cu hipercolesterolemia alimentară leziunile spontane apar la vîrste mai tinere, în număr mai mare, cu conținut lipidic bogat, cu tendință evolutivă spre ateroame, iar intima prezintă o îngroșare marcată și numeroase focare degenerative. Aceste rezultate demonstrează că principalii factori de risc ai aterosclerozei umane, acționînd în condiții experimentale, grăbesc și evoluția plăcilor apărute spontan la animale. Acest efect agravant este diferit pentru hipercolesterolemie și hipertensiune arterială, iar din asocierea celor doi factori de risc rezultă o potențare și mai netă a evoluției leziunilor spre forme severe.

2. ASPECTE PARTICULARE

a. MAIMUȚE

Studiile asupra histogenezei, topografiei și incidenței leziunilor de ateroscleroză spontană la maimuțe sînt de un interes deosebit pentru patologia umană. În special la maimuțele antropomorfe aceste leziuni prezintă o mare asemănare cu cele de la om, apărînd în aceleași teritorii de elecție: aorta, arterele coronare și arterele cerebrale. Nu dispunem încă de informații detailate în acest domeniu, puține grupe fiind urmărite sistematic timp mai îndelungat.

Unul dintre primele studii cu caracter mai amplu a fost efectuat pe 67 maimuțe incluzînd specii variate. În momentul intrării în captivitate presiunea sistolică a variat între 119 și 135 mm Hg, cea diastolică între 76 și 81 mm Hg, iar colesterolemia între 110,5 și 123 mg/100 ml. După aproximativ trei luni de captivitate nivelul colesterolemiei a crescut la 147,5 mg/100 ml, deși alimentația a fost săracă în colesterol și grăsimi saturate (VLODAVER și col. 1968). Primele plăci au apărut pe aortă și numărul lor a crescut progresiv în vîrstă, devenind vizibile macroscopic de la vîrsta de 10 ani. Diametrul plăcilor a variat între 0,5 și 2,4 mm, aspectul a fost opac, gălbui, consistența fibroasă, iar datorită proeminării lor în lumen suprafața vasului prezenta un aspect granulat. În zonele de emergență plăcile confluau, ocupînd suprafețe de 6—7 mm și obstruînd parțial lumenul ramurii ce lua naștere din aortă. Microscopic, leziunile erau constituite din proliferări nodulare ale celulelor musculare netede și neoformare masivă de fibre de colagen, parțial hialinizate. Unele dintre aceste plăci aveau asociate și mici tromboze și colecții de limfocite, conțineau cristale de colesterol și acumulări de calciu. La toate cele 17 specii investigate histogeneza plăcilor a apărut similară, fiind precedată de alterări ale lamelor elastice, îngroșarea intimei, acumulări de mucopolizaharide

Scanned with OKEN Scanner

acide, urmată de proliferarea nodulară a celulelor musculare netede şi neoformarea de fibre de colagen. Acest *patern* histogenetic a fost observat şi în arterele coronare unde, datorită dimensiunilor mai mici, multe plăci au fost evidenţiate numai prin examenul microscopic. După ce placa s-a maturizat, au apărut mici acumulări lipidice, calcificări şi procese necrotice. Acumularea tardivă a lipidelor în cursul histogenezei leziunilor este menţionată şi în alte observaţii (LINDSAY şi CHAIKOFF 1966).

La maimuţele Macaca mulatta (rhesus), îngroşarea intimei apare pre şi postnatal, ca şi la om, fiind localizată în perniţele de la zonele de bifurcaţii şi emergenţe. Aspectele microscopice se modifică cu înaintarea în vîrstă, îngroşarea intimală luînd progresiv un caracter difuz, pe fondul căruia se dezvoltă proliferări nodulare ce duc la formarea plăcilor fibroase. În toată această perioadă de formare a plăcilor nivelul colesterolemiei variază între 130 şi 180 mg/100 ml, neputîndu-se stabili o corelaţie între acest nivel şi histogeneza leziunilor. Severitatea îngroşării intimei a putut fi însă corelată cu tensiunea nervoasă indusă de captivitate şi în primul rînd cu intensificarea stresurilor hemodinamice prin descărcări repetate de catecolamine. La maimuţele libere îngroşarea intimei a apărut semnificativ mai redusă decît la animalele de vîrstă similară trăind în captivitate. Cu cît maimuţele au fost obligate să îşi reducă activitatea fizică, datorită cuştilor mici în care erau ţinute, cu atît apăreau în arterele coronare alterări severe ale limitantei elastice interne, îngroşări intimale difuze şi proliferări nodulare ale celulelor musculare netede (VLODAVER şi col. 1968). La maimuţele supuse la tensiuni nervoase prelungite s-au notat şi modificări ale traseelor electrocardiografice sugerînd ischemie miocardică (MIMINOSHVILI şi col. 1960). Ca şi la om, primele striuri lipidice din aortă au fost evidenţiate imediat după naştere; unele apoi dispar, pentru a reapărea în mare număr la pubertate. Aceste apariţii, dispariţii şi reapariţii par genetic programate; în sprijinul acestei ipoteze ar pleda observaţiile efectuate pe două loturi de maimuţe tinere, primul lot hrănit timp de trei luni, al doilea lot timp de doi ani, cu aceeaşi dietă săracă în colesterol. Striurile lipidice au fost mai frecvente la lotul hrănit doi ani cu dieta săracă în colesterol, sugerînd că formarea lor nu este condiţionată de aportul alimentar în colesterol şi grăsimi saturate (STRONG 1974). Numărul de plăci în aortă creşte de asemenea cu înaintarea în vîrstă, fiind prezente la 28 din 66 de maimuţe în vîrstă de 6,5 ani şi la 62 din 66 cînd vîrsta depăşea 10 ani (WANG HUAN-PAO 1964). Dacă se administrau animalelor de sex feminin contraceptive, frecvenţa plăcilor creştea în mod semnificativ, fără să se asocieze cu valori mai ridicate ale colesterolemiei. Cu cît aceste valori erau mai ridicate, cu atît însă exista probabilitatea detectării unei componente lipidice mai importante în placa fibroasă.

La maimuţele *Saimiri sciureus* (squirel), din 47 de aorte examinate, 40 aveau striuri lipidice şi plăci detectabile macroscopic, iar microscopic 72 din 74 (MIDDLETON şi col. 1964). Colesterolemia a variat în jurul cifrei de 165 mg/100 ml fără nici o corelare cu histogeneza leziunilor. S-a constatat şi o afectare importantă a arterelor coronare, la 17 din cele 56 de maimuţe investigate; plăcile fibroase din coronare au apărut după pubertate, în perioada cu cel mai coborît nivel al colesterolemiei, de 96 ± 5 mg/100 ml (MALINOW şi STORVICK 1968).

Un studiu asupra maimuţelor din Africa centrală, trăind în condiţii de libertate, a permis detectarea unor diferenţe semnificative între tipul leziuni-

Scanned with OKEN Scanner

lor apărute la *Ceropithecus ascanius* în comparaţie cu *Cerocebus albigena*. La maimuţele *Ceropithecus ascanius* nu sînt prezente în tot cursul vieţii decît striuri lipidice; la *Cerocebus albigena* striurile coexistă cu plăci fibroase. Ca şi la alte specii, prezenţa plăcilor s-a asociat cu valori coborîte ale colesterolemiei, variind între 90 şi 120 mg/100 ml (STRONG şi TAPPEN 1965). Maimuţele în captivitate au prezentat mai ales în arterele coronare leziuni mai numeroase şi mai severe decît animalele trăind în libertate (CLARKSON şi col. 1968).

b. PORCI

Cea mai mare frecvenţă a leziunilor spontane de ateroscleroză se poate evidenţia la animalele între 5—14 ani. Primele modificări apar în aortă interesînd lamele elastice, urmate de îngroşarea intimei şi proliferarea nodulară a celulelor musculare netede migrate din medie în intimă. O parte din aceste celule se încarcă cu vacuole lipidice devenind elemente spumoase; o altă parte sintetizează mari cantităţi de colagen, contribuind la formarea plăcii fibroase. Acelaşi *patern* histogenetic pare a exista atît în aortă cît şi în arterele coronare şi cerebrale, histogeneza plăcilor fiind condiţionată de îngroşarea prealabilă a intimei, iar îngroşarea intimală de alterările ţesutului elastic. Cu cît vîrsta este mai înaintată, alterările limitantei elastice din coronare sînt mai severe iar îngroşarea intimală mai difuză şi cu caracter mai obstructiv. Între 4—10 ani, în această intimă îngroşată iau naştere plăcile fibroase, conţinînd puţine lipide perifibrilare, colagen hialinizat şi ţesut elastic „degenerat" cu afinităţile tinctoriale ale colagenului. Cînd procesul de fibroză este mai dens lipidele se acumulează ca o coroană la periferia leziunii. Calcificarea plăcilor este rară, ca şi microhemoragiile şi aspectele de capilarizare (FRENCH şi col. 1965). Bogăţia lipidelor din plăci poate fi pozitiv corelată cu bogăţia în lipide a alimentaţiei; cu cît dieta cuprinde cantităţi mai mari de colesterol şi grăsimi saturate, cu atît componenta lipidică a plăcilor fibroase este mai semnificativă. Această încărcare lipidică a plăcilor apare frecvent la porcii tineri crescuţi în combinate de tip industrial (ADAMEŞTEANU şi col. 1973). Ca şi la maimuţe, nici la porci nu s-a putut stabili o corelaţie între nivelul colesterolemiei, perioada apariţiei plăcilor şi mărimea suprafeţei afectată de leziuni. Dar, tot ca şi la maimuţe, dieta bogată în colesterol şi lipide saturate măreşte conţinutul lipidic al plăcilor preexistente.

Histogeneza uniformă a leziunilor, începînd cu alterările limitantelor elastice, îngroşarea intimei, acumularea de mucopolizaharide şi sfîrşind cu prolifarea nodulară a celulelor musculare şi neoformarea de fibre de colagen, sugerează rolul aterogen dominant al stresurilor hemodinamice. În acelaşi sens pledează şi localizarea electivă a plăcilor la emergenţe şi bifurcaţii. Se semnalează şi anumite aspecte care ar putea indica histogeneza unor plăci din organizarea intramurală a trombilor (GEISSINGER şi col. 1962). Nu s-au observat aspecte care să sugereze „conversiunea" striurilor lipidice în plăci fibroase, lipsind aspectele intermediare ale acestei posibile conversiuni. Pe de altă parte, apariţia unor plăci stratificate pledează pentru insudaţii periodice ale componentelor plasmatice urmate de organizarea conjunctivă a insudatului. Existenţa unor puseuri repetate de insudare şi proliferare ar putea fi corelată cu eroziuni endoteliale produse de stresul de dragare.

Scanned with OKEN Scanner

La porcii ţinuţi în spaţii foarte mici, cum sînt cele din anumite crescătorii pentru producţia de carne, s-a constatat o dezvoltare mai rapidă a leziunilor de ateroscleroză, în comparaţie cu animalele de vîrste similare, crescute în spaţii mai largi. Concomitent se produc şi alterări mai severe ale lamelor elastice şi îngroşări intimale mai marcate şi mai difuze. În plus, aceste modificări afectează nu numai segmentele extramiocardice ale arterelor coronare, ci şi pe cele intramiocardice (KAMMERMAN şi col. 1976). Stimulul aterogen s-ar exercita prin intermediul tensiunii nervoase datorită schimbării *pattern*-ului de comportare. Reamintim că observaţii similare au fost făcute pe grupe de maimuţe trăind în captivitate şi în libertate, mecanismul cel mai des implicat fiind descărcările repetate de catecolamine.

Leziuni degenerative precoce ale ţesutului elastic şi în special ale limitantei elastice interne a arterelor coronare au fost descrise şi la porcul mistreţ. Începînd de la vîrsta de şase luni, îngroşarea intimei devine evidentă, conţinînd proliferări nodulare ale celulelor musculare netede, cu aspect de microplăci fibroase (MAINGUET 1964). În aortă, prima fază a dezvoltării leziunilor apare tot sub forma unor proliferări nodulare a celulelor musculare netede, asociată cu degradarea şi chiar dispariţia lamelor elastice din zonele afectate (LEAHU şi CUCU 1973).

c. BOVIDEE

Un studiu pe 200 de animale între cinci şi şase ani a evidenţiat leziuni spontane de ateroscleroză la 53,5% dintre bovidee; din totalul acestor leziuni 97,2% erau localizate în segmentul abdominal al aortei (LIKAR şi ROBINSON 1966). Cu ajutorul anticorpilor antimiozină s-a demonstrat că aceste leziuni rezultă din proliferări nodulare ale celulelor musculare netede, leziuni ce iau aspectul plăcilor fibroase în care ulterior se acumulează lipide (KNIEREM 1967). La animalele bătrîne plăcile suferă un proces de calcificare, dar conţinutul lipidic continuă să rămînă redus, cu excepţia perioadei de gestaţie. În această perioadă cantitatea de lipide din plăci creşte şi ea poate fi corelată cu ridicarea valorilor colesterolemiei de la 80—100 mg/100 ml la 240 mg/100 ml (LIKAR şi ROBINSON 1966).

Factorii incriminaţi în geneza plăcilor par a fi de ordin hemodinamic, probabil prin intermediul eroziunilor endoteliale.

d. PISICI

Leziunile de ateroscleroză spontană au o incidenţă foarte mare, fiind evidenţiate la 35 din cele 36 de animale investigate, dintre care numai 14 aveau vîrsta peste cinci ani (LINDSAY şi CHAIKOFF 1955). Aceste leziuni apar sub aspectul plăcilor fibroase, cu diametrul de aproximativ 2 mm, distribuite pe arcul aortic, peretele posterior al segmentului toracic şi mai ales în segmentul abdominal al aortei. Histogeneza este similară cu cea menţionată la maimuţe, porci şi bovidee, începînd cu alterări ale lamelor sau limitantelor elastice, îngroşări intimale, acumulări de mucopolizaharide acide şi sfîrşind cu proliferări nodulare ale celulelor musculare netede şi neoformare abundentă de fibre colagene. Lipidele lipsesc în plăcile de la animalele tinere şi sînt prezente în cantităţi mici la cele bătrîne. În arterele coronare plăcile au o incidenţă mai redusă decît în aortă, fiind prezente la numai două animale din

Scanned with OKEN Scanner

lotul de 36 de pisici. Factorul aterogen principal al plăcilor este considerat a fi tot de ordin hemodinamic (LINDSAY şi CHAIKOFF 1955).

e. CIINI

Tabloul macro şi microscopic al leziunilor pare a fi similar cu cel de la pisică, după cum pare a fi similară şi histogeneza plăcilor. Primele dintre aceste plăci au fost observate la vîrsta de un an şi ele par a rezulta din conversiuni ale perniţelor intimale din zonele de emergenţă; apoi iau naştere în variate zone ale intimei îngroşate, atingînd incidenţa cea mai mare către vîrsta de opt ani, cînd afectează şi arterele cerebrale. În anumite segmente arteriale proliferarea celulelor musculare ce formează plăcile este atît de intensă încît apar obstrucţii parţiale sau chiar totale ale lumenului (NANDA şi GETTY 1972). La animalele bătrîne majoritatea plăcilor au un aspect de ţesut conjunctiv hialinizat; calcificările sînt rare, ca şi acumulările lipidice, iar ulceraţiile şi trombozele par â fi absente.

f. ELEFANŢI

Leziunea dominantă este placa fibroasă, a cărei apariţie şi dezvoltare nu a putut fi corelată cu valorile colesterolemiei, în cursul histogenezei plăcilor aceste valori fiind jumătate din „normalul" de la om, respectiv sub 100 mg/100 ml. Aceste animale ierbivore, cu o durată a vieţii de 60—70 de ani, ingerează zilnic o alimentaţie cu cel mult 1,5% conţinut lipidic şi reprezintă un exemplu elocvent în care dezvoltarea plăcilor aterosclerotice nu poate fi explicată prin teoria filtrării lipidelor. Factorul aterogen principal este probabil stresul hemodinamic care produce eroziuni endoteliale, urmate de repetate pusee insudative şi de organizare conjunctivă a insudatului, rezultînd aspectul stratificat al anumitor plăci. Lipidele sînt prezente în cantitate redusă şi doar în plăcile mature, avînd localizare intracelulară. Elementele musculare cu vacuole lipidice nu devin însă celule spumoase şi nici nu suferă procese de necroză. Datele prezentate se referă la aortă, afectarea coronarelor fiind extrem de rară (McCULLAGH 1972).

g. BALENE

Leziunile au o componentă lipidică mult mai importantă decît la animalele prezentate anterior, anumite plăci fibroase luînd aspectul de aterom; nu ajung însă în faza de ulcerare şi nici nu se asociază cu procese trombozante. În perioada formării leziunilor bogate în lipide, colesterolemia variază între 160 şi 180 mg/100 ml, iar raportul dintre lipoproteinele α/β este de 4/1, total diferit de cel de la om, sugerînd un teren rezistent la ateroscleroză pe care realitatea îl contrazice. Histogeneza leziunilor începe tot cu alterări ale lamelor elastice, îngroşări intimale, acumulări de mucopolizaharide acide şi se sfîrşeşte tot cu proliferări nodulare ale celulelor musculare netede şi neoformări abundente de fibre de colagen. Sub acest aspect dinamica dezvoltării plăcilor este similară cu cea descrisă la maimuţe, porci, pisici, cîini şi elefanţi; spre deosebire de aceste animale însă balena prezintă o infiltrare rapidă şi masivă a plăcilor fibroase cu lipide, înainte ca leziunea să fi ajuns la maturitate (HASHIMOTO şi colab. 1967). Acumulările lipidice apar fără să se producă o creş-

Scanned with OKEN Scanner

tere a valorilor colesterolemiei şi în ciuda faptului că alimentaţia animalului conţine în exclusivitate acizi graşi nesaturaţi şi proteine neaterogene. Mecanismul ce stă la baza acestor acumulări rămîne un subiect interesant de investigaţie.

h. ŞOBOLANI ŞI ŞOARECI

Interesul pentru aceste animale din punct de vedere al patologiei comparate a aterosclerozei derivă din suprapunerea perioadei de apariţie şi dezvoltare a leziunilor cu perioada de reproducere, sugerînd un rol aterogen al anumitor particularităţi endocrine. La femela puberă aceste leziuni sînt atît de dezvoltate încît pot fi văzute macroscopic, în timp ce la mascul evidenţierea lor implică examenul microscopic (WEXLER 1964 a). În perioada cînd apar leziunile nivelul colesterolemiei este coborît, iar lipidele nu reprezintă decît cel mult 4% din totalul componentelor dietei. Histogeneza leziunilor este reactivată de o nouă perioadă de reproducere şi ciclul se repetă, mărindu-se progresiv severitatea leziunilor, caracterul lor obstructiv şi suprafaţa arterială afectată. Primul teritoriu vascular în care se dezvoltă leziunile este crosa aortei, al doilea segmentele toracic şi abdominal al aortei pînă la bifurcaţia iliacelor, al treilea arterele coronare şi cerebrale. În patul coronarian sînt afectate atît ramurile extramiocardice cît şi cele intramiocardice, plăcile luînd un caracter obstructiv ce poate duce la infarcte miocardice (WEXLER 1964 a); aceste plăci nu conţin lipide şi nu evoluează spre forme complicate. Întrucît histogeneza leziunilor are loc în prezenţa unei colesterolemii variind între 108 şi 173 mg/100 ml, valori lipsite de semnificaţie aterogenă, se consideră ca principal factor implicat în această histogeneză, hiperfuncţia axului hipotalamo-hipofizo-corticosuprarenal. S-au mai evidenţiat la animalele în perioada de reproducere şi episoade de hipertensiune arterială, sugerînd şi intensificări ale stresurilor hemodinamice. În acest sens ar pleda şi leziunile dezvoltate în arterele renale care prezintă un grad deosebit de severitate (WEXLER 1964 b).

i. MAMIFERE VARIA

Iepurele de casă (albino) prezintă leziuni de ateroscleroză spontană cu o incidenţă de 10%, majoritatea plăcilor fiind localizate în segmentul abdominal al aortei. Această incidenţă şi localizare creează condiţii inadecvate pentru studiul apariţiei leziunilor de ateroscleroză experimentală sub acţiunea dietelor bogate în colesterol, putînd constitui o importantă sursă de eroare (GARBARSCH şi colab. 1970). Plăcile apărute în mod spontan sînt mult mai asemănătoare cu leziunile de ateroscleroză din aorta de om decît cele produse experimental (KOBERNIK şi HASHIMOTO 1963).

Oaia, animal ierbivor, face frecvent leziuni spontane de ateroscleroză ce afectează numeroase teritorii arteriale, inclusiv vasele cerebrale. Se menţionează tendinţa de conversiune în plăci a perniţelor intimale din zone de emergenţă (STEHBENS 1964).

Cerbul carpatin (Cervus elaphus) prezintă o incidenţă crescută de ateroscleroză spontană, evidenţiată la 44,4% din animalele investigate (CUCU 1976 a). Leziunea dominantă apare sub aspectul plăcii fibroase, prezentă mai ales în aorta toracică, în timp ce arterele coronare rămîn neafectate. Plăcile nu conţin lipide şi histogeneza lor are loc la valori coborîte ale colesterolemiei şi sub influenţa unei alimentaţii vegetariene, bogată în grăsimi nesaturate.

Capra neagră, trăind în libertate, are o incidenţă neaşteptat de mare a leziunilor de ateroscleroză spontană, leziuni ce au fost evidenţiate în aortă la 14 din 24 de animale şi în arterele coronare la 10 din 24 de animale (CUCU 1976 b). Un factor favorizant adiţional în apariţia leziunilor ar putea fi hipoxia, animalele ducîndu-şi viaţa la înălţimi mari, cu concentraţii mai reduse de oxigen în atmosferă.

Scanned with OKEN Scanner

Veverița. (Sciurus vulgaris) are în artere doar îngroșări intimale minime, fără depuneri lipidice și proliferări nodulare ale celulelor musculare. Factorii aterogeni nu pot iniția de la acest stadiu de îngroșare intimală dezvoltarea ulterioară a plăcilor datorită unei rezistențe naturale al cărui substrat nu a fost încă elucidat. Menționăm că valorile colesterolemiei la acest animal sînt de 125,7±43 mg/100 ml (CUCU și SUCIU 1974).

j. PORUMBEI

Păsări accesibile pentru experimentare și în același timp valoroase pentru studiul etiopatogeniei aterosclerozei, datorită existenței unor rase la care se transmite, din generație în generație, o susceptibilitate marcată sau o rezistență marcată la dezvoltarea leziunilor spontane. Aceste două rase includ specimene aparent similare, cu același tip de alimentație, același nivel al colesterolemiei, același *pattern* al lipoproteinelor. Patrimoniul genetic este însă diferit prin absența sau predominanța anumitor enzime; aceste particularități contribuie la înțelegerea, cel puțin în parte, a susceptibilității sau rezistenței la ateroscleroza spontană.

Rasa susceptibilă, White Carneau (WC) prezintă în mod constant leziuni severe trăind în mediul ei natural, hrănindu-se cu grăunțe, dar avînd o colesterolemie de 313,7±19 mg/100 ml, trigliceridemia 217±11,83 mg/100 ml, presiunea sistolică 204±2,3 mm Hg și cea diastolică 140±1,5 mm Hg (MIDDLETON și col. 1965). Aceste păsări sînt supuse de la naștere acțiunii asociate a hipercolesterolemiei și hipertensiunii arteriale. La numai două sau trei săptămîni de la ecloziunea oului apar în aortă striuri lipidice; la vîrsta de aproximativ trei ani se dezvoltă tot în aortă, primele plăci fibroase sau fibrolipidice. Acestea pot fi evidențiate în aortă la peste 95% dintre păsările aparținînd rasei White Carneau, iar în coronare la peste 75% dintre porumbei. După vîrsta de 10 ani s-au detectat și cicatrici miocardice de infarct.

Rasa rezistentă, Show Racer (SR) are același nivel crescut al colesterolemiei, dar hipercolesterolemia de lungă durată nu devine aterogenă; valorile presiunii arteriale sînt puțin mai mici decît la White Carneau și nu cresc pe măsură ce pasărea îmbătrînește (RYMASZEWSKI și col. 1976). Totuși aceste diferențe rămîn nesemnificative între cele două rase și nu pot ajuta la înțelegerea rezistenței la ateroscleroză a porumbeilor din rasa Show Racer. Nu au rezultat date semnificative nici din studiul comparativ al compoziției chimice a gălbenușului de ou, singurul aspect de menționat fiind consumul mai mare de fosfolipide la păsările din rasa rezistentă (CRAMER și SMITH 1976). În schimb, analiza metabolismului peretelui arterial la cele două rase a evidențiat o deficiență în activitatea lipoamid și malic dehidrogenazelor și o activitate mai intensă decît normal a fosfofructokinazei și aldolazei la rasa susceptibilă la ateroscleroză. Schimbarea *patern*-ului enzimatic se transmite genetic și are ca rezultat producerea prin ciclul Krebs a unei cantități insuficiente de citrat și de ATP la White Carneau în comparație cu Show Racer. Aceasta sugerează că porumbeii susceptibili la ateroscleroza spontană se nasc cu o dependență mărită a peretelui arterial de glicoliza anaerobă, fiind extrem de sensibili la apariția hipoxiei (ZEMPLENYI și ROSENSTEIN 1975). În culturile de țesuturi, celulele aortei păsărilor din rasa susceptibilă înmagazinează mai multe lipide din mediul de cultură decît cele ale rasei rezistente; această particularitate metabolică adițională s-ar datora unei activități mai mari la rasa susceptibilă a esterazelor ce sintetizează esterii de colesterol și unei activități mai reduse a enzimelor ce hidrolizează acești esteri, în comparație cu

Scanned with OKEN Scanner

rasa rezistentă (KRITCHEVSKY şi KOTHARI 1973). Dacă se urmăreşte tot în culturi de ţesuturi dezvoltarea celulelor musculare netede recoltate din aortele de la cele două rase, se constată o evoluţie rapidă spre aspecte degenerative numai a celulelor provenite de la porumbeii White Carneau. Celulele musculare netede din aortele păsărilor susceptibile la ateroscleroză acumulează în protoplasmă mari cantităţi de scualen şi de colesterol, se încarcă cu lipide şi apoi degenerează, apărînd aspecte de necroză a citoplasmei. Dimpotrivă, celulele provenite din aortele porumbeilor aparţinînd rasei rezistente la ateroscleroză se dezvoltă normal în culturile de ţesuturi, fără încărcare lipidică şi fără alte aspecte patologice. *Fig. 85* sintetizează investigaţiile efectuate în culturi de ţesuturi (SMITH S. C. şi SMITH 1974).

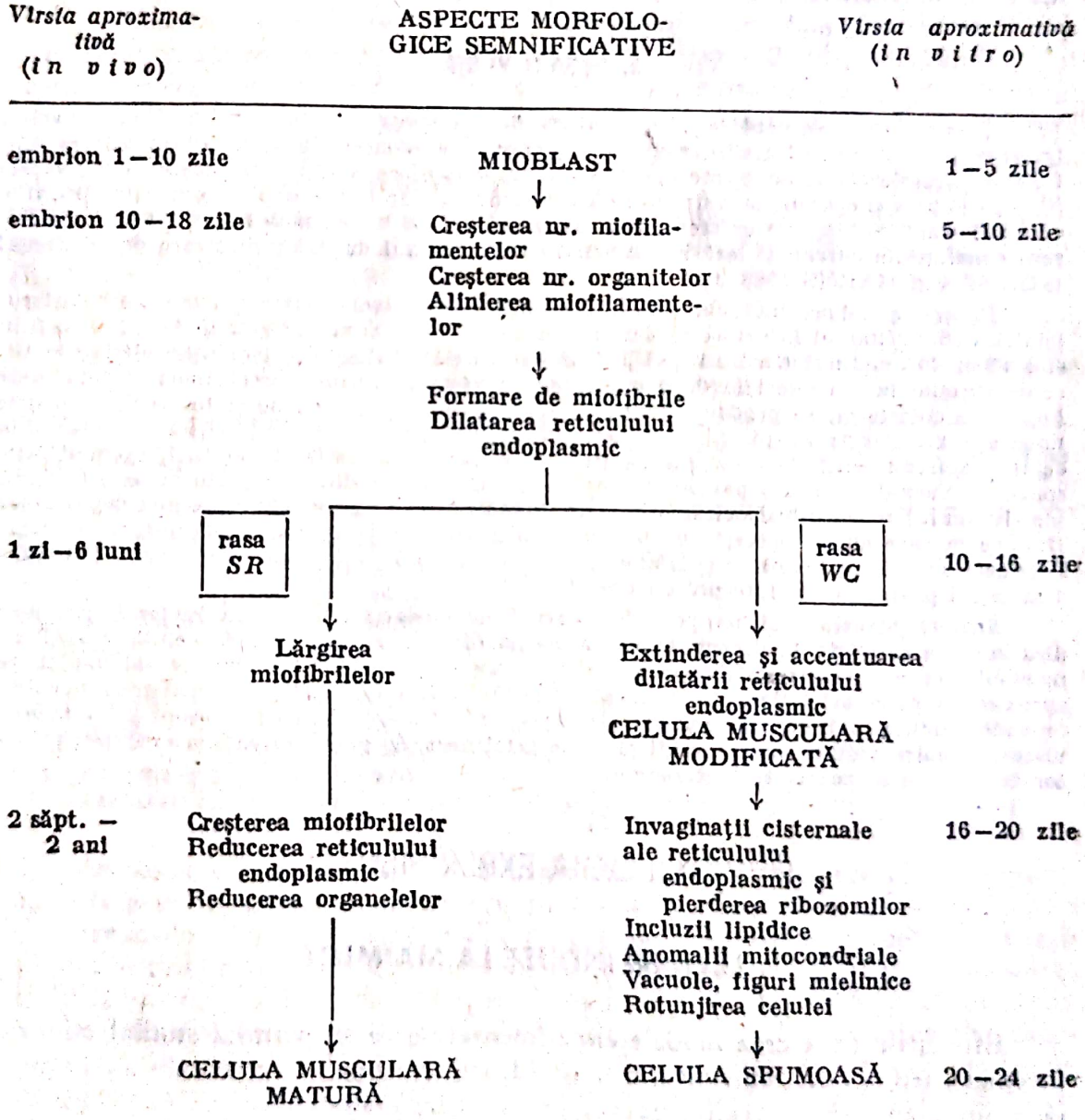


Fig. 85 Comportamentul, în culturi de ţesuturi, al celulelor musculare netede din aorta de porumbel, aparţinînd raselor de porumbei rezistentă (Show Racer, SR) şi susceptibilă (White Carneau, WC) la ateroscleroza spontană şi experimentală (după SMITH S.C. şi SMITH 1974, cu permisiunea editurii Springer, Berlin-New York).

Scanned with OKEN Scanner

Rezultatele menţionate demonstrează importanţa factorului genetic în crearea unei susceptibilităţi particulare sau a unei rezistenţe particulare la apariţia leziunilor de ateroscleroză, avînd o anumită valoare şi pentru înţelegerea etiopatogeniei bolii umane. Peretele arterial de om are aceeaşi tendinţă mărită de a folosi glicoliza anaerobă ca principală sursă de energie ca şi peretele arterial al aortei porumbeilor aparţinînd rasei White Carneau susceptibilă la ateroscleroză. Apare în plus aceeaşi deficienţă în degradarea esterilor de colesterol acumulaţi în lizozomii celulelor musculare netede din intimă şi în reglarea pătrunderii intracelulare a lipidelor. Mai menţionăm, tot ca un aspect similar omului şi porumbeilor din rasa susceptibilă la ateroscleroză, capacitatea mărită de a esterifica cu acid oleic colesterolul pătruns în lizozomii celulelor musculare netede din intima arterelor (SUBBIAH şi col. 1974).

k. PĂSĂRI VARIA

Curcanul face frecvent leziuni de ateroscleroză spontană, mai ales la nivelul aortei, leziuni care evoluează relativ frecvent spre anevrisme, evidenţiabile de la vîrsta de şase luni. Plăcile aterosclerotice sînt foarte bogate în celule musculare netede şi sărace în fibre; aceste fibre au în plus şi o stabilitate structurală deficitară care ar putea explica evoluţia spre anevrism disecant. S-a sugerat existenţa unor asemănări între histogeneza leziunilor de ateroscleroză spontană la curcan şi leziunile obţinute experimental după administrare de latirogeni (SIMPSON şi HARMS 1968 b.).

Puiul de găină prezintă, chiar de la ecloziunea oului, nivele foarte ridicate ale colesterolemiei: 326 mg/100 ml în prima zi, 489 mg în ziua a 4-a, 205 mg în ziua a 6-a, 155 mg în ziua a 8-a, 149 mg în ziua a 21-a (NICHOLS şi col. 1961). Datorită acestei hipercolesterolemii, ce se apropie în primele zile după ecloziune de valorile obţinute experimental prin diete bogate în colesterol, se produc tezaurizări lipidice în variate organe şi ţesuturi, ce dispar după aproximativ trei săptămîni. Prezenţa de vacuole lipidice în endoteliile arterelor şi în celulele musculare netede din media acestor artere nu are, în astfel de condiţii, o semnificaţie specială. Vacuole similare pot fi evidenţiate şi în celulele din vene, din variate teritorii ale sistemului reticulo-histiocitar, din piele, în macrofage sanguine etc. Prezenţa depunerilor lipidice în vase nu se însoţeşte de îngroşări intimale sau de aspecte degenerative celulare. Este necesar a cunoaşte existenţa „fiziologică" a acestui proces de tezaurizare, întrucît vizualizarea lui poate duce la interpretări eronate.

Struţul (Strutio camelus) prezintă frecvent plăci aterosclerotice cu caracter fibros, mai ales în aorta abdominală. Leziunile sînt alcătuite din rînduri ordonate de celule musculare netede, între care se găsesc fibre colagene şi elastice, ajungînd la grosimi ce pot depăşi de aproximativ patru ori intima perilezională (STOUT 1976). În unele plăci apar zone mucoide centrale, dînd leziunii aspect de placă gelatinoasă. Struţul este considerat drept cel mai bun material pentru studiul conversiunii plăcilor gelatinoase în plăci fibroase şi evoluţiei plăcilor gelatinoase necrozate spre ateroame.

B. PATOLOGIA EXPERIMENTALĂ

1. LEZIUNI INDUSE LA MAIMUŢE

Eforturile de a crea modele experimentale care să permită studiul etiopatogeniei cardiopatiei ischemice şi a accidentelor vasculare cerebrale au impus, pe prim plan, pentru realizarea acestor modele, maimuţele. Utilizarea acestor animale a permis producerea de plăci aterosclerotice cu un grad avansat de evoluţie, cu tendinţă la tromboză. Apariţia leziunilor pare a fi condiţionată de un nivel al hipercolesterolemiei simliar cu cel frecvent întîlnit la populaţia

Scanned with OKEN Scanner

adultă din țările cu cea mai mare incidență a manifestărilor clinice ale aterosclerozei (WISSLER și VESSELINOVITCH 1978).

Dezavantajul folosirii maimuțelor este reprezentat de greutatea procurării lor, prețul de cost ridicat, întreținerea pretențioasă și frecvența cu care se întîlnesc leziunile spontane de ateroscleroză. Datele din literatură subliniază importanța maimuțelor Macaca mulatta (rhesus) pentru producerea experimentală a aterosclerozei, întrucît fac mult mai rar, în comparație cu alte specii, leziuni spontane; chiar dacă apar, aceste leziuni au un grad redus de severitate. În *tabelul XXII* sînt menționate efectele dietei bogate în colesterol asupra valorilor colesterolemiei la diferite specii de maimuțe. De un interes deosebit pare a fi modelul experimental reprezentat de cimpanzeu (Pan troglodites). Omnivor, are valorile cele mai ridicate ale colesterolemiei dintre toate maimuțele ținute în captivitate (între 120 și 470 mg/100 ml), comparabile cu cele ale subiecților de vîrstă adultă din țările cu standard de viață ridicat și incidență crescută a cardiopatiei ischemice. Aceste valori par a fi modificate de tensiunea nervoasă. Diete hipercalorice, suplimentate cu 2,5% colesterol, produc o hiper β -lipoproteinemie similară cu cea umană. S-au detectat și hiperlipoproteinemii ereditare și dacă se va confirma existența hipercolesterolemiei familiare, valoarea acestui model experimental va crește și mai mult (BLATON și PEETERS 1976).

TABELUL XXII

Efectele dietei bogate în colesterol asupra valorilor colesterolemiei la diferite specii de maimuțe (HOWARD 1976)

Specia de maimuțe	Tipul dietei	Cantitatea de colesterol în dietă	Durata experimentului (luni)	Colesterolemie (mg/100 ml)
Papis sp. (Baboon)	lot martor	—	—	120
	gălbenuș de ou (15%)	0.5	24	286
	unt (15%)	2.0	24	383
Macaca mulatta (Rhesus)	lot martor	—	—	131
	gălbenuș de ou (12%)	0.4	12	474
	unt (12%)	2.0	4	688
Ateles spider (Spider)	lot martor	—	—	169
	gălbenuș de ou (12%)	0.4	12	204
	unt (12%)	0.4	12	204
Pan troglodytes (Chimpanzee)	lot martor	—	—	200
	unt	2.5	24	450

Ateroscleroza experimentală a maimuțelor este caracterizată prin apariția atît a unor leziuni asemănătoare striurilor lipidice, cît și plăcilor fibroase și ateroamelor. Într-un prim stadiu se produce îngroșarea intimei, predominînd procesele proliferative, pentru ca în stadii ulterioare să apară încărcarea lipidică, necroza și fibroza. Trecerea de la forma proliferativă spre cea necrozantă este influențată atît de gradul îngroșării intimei, cît și de nivelul colesterolemiei (SCOTT și col. 1967). La nivele foarte ridicate ale colesterolemiei apar necroze și în striurile lipidice, rezultînd din degradarea protoplasmei celulelor supraîncărcate cu vacuole lipidice (STARY 1976). Acumularea de material necrotic în centrul plăcilor duce la proeminarea leziunii în lumenul vasului potențînd caracterul ei obstructiv. La anumite specii de maimuțe și în special la Macaca mulatta (rhesus) acest tip de placă, cu centru mare necrotic, poate obstrua 80—90% din lumenul arterei coronare, rezultînd infarcte de

Scanned with OKEN Scanner

miocard (TAYLOR şi col. 1963). Astfel de leziuni pot fi obţinute după administrarea, timp de 40 de săptămîni, a unei diete conţinînd 1,5 g colesterol şi avînd 42% din calorii furnizate de lipide, valorile colesterolemiei urcînd pînă la 679 mg/100 ml. Dacă dieta bogată în colesterol este administrată maimuţelor din specia Ateles sp., leziunile rămîn în stadii incipiente de dezvoltare, fără caracter obstructiv, iar colesterolemia prezintă creşteri puţin importante, chiar dacă administrea dietei se prelungeşte timp de patru ani (PUCAK şi col. 1973). În leziuni în loc să predomine esterii de colesterol, predomină fosfolipidele. Am menţionat acest exemplu pentru a sublinia ce importanţă are o bună cunoaştere a modelului experimental pe care intenţionăm a-l folosi.

Dacă unui lot de maimuţe Macaca mulatta (rhesus) i se administrează timp de 107 săptămîni dieta „tipică" a adultului din Statele Unite (84 g proteine, 278 g glucide, 106 g lipide, 800 mg colesterol, furnizînd 2 400 calorii), iar unui alt lot dieta „de prevenire" a cardiopatiei ischemice (86 g proteine, 389 g glucide, 57 g lipide, 100 mg colesterol, furnizînd tot 2 400 calorii), apar între cele două loturi diferenţe semnificative ale valorilor colesterolemiei (482 şi respectiv 318 mg/100 ml) şi ale suprafeţei aortice afectată de leziuni (75 şi respectiv 10—15%). Nu s-au detectat diferenţe legate de sex în apariţia leziunilor de ateroscleroză experimentală (WISSLER şi col. 1965; WISSLER şi VESSELINOVITCH 1974).

Importanţa relaţiei dietă-leziune a apărut foarte semnificativă şi în altă investigaţie experimentală efectuată tot pe specia Macaca mulatta (rhesus), maimuţele fiind împărţite în trei grupe ce au primit cantităţi egale de hrană, conţinînd 2% colesterol şi 25% lipide. Acestea din urmă erau reprezentate la primul lot de unt, la al doilea lot de uleiul de porumb, la al treilea lot de uleiul de arahide. Colesterolemia a crescut la 1 130 mg/100 ml după unt şi la 546 mg/100 ml după uleiul de arahide. Suprafaţa afectată cu leziuni în aortă a variat între 82% la lotul hrănit cu unt şi 62% la cel cu ulei de porumb. Leziunile cele mai severe au apărut la animalele cu dieta conţinînd uleiul de arahide, deşi acest ulei este bogat în acizi graşi nesaturaţi. Aceste leziuni, cu aspectul plăcilor fibroase şi fibro-lipidice, au evoluat rapid spre forme ulcerate şi ocluzive (WISSLER şi col. 1967). Investigaţii ulterioare au confirmat această capacitate a uleiului de arahide de a produce leziuni cu caracter obstructiv la maimuţe. Cînd se asociază şi untul, leziunile îşi măresc conţinutul lipidic; dacă untul este scos din dietă, cantitatea de grăsimi din plăci diminuează şi plăcile fibro-lipidice devin pur fibroase (MARUFFO şi PORTMAN 1968).

Suprafaţa afectată şi severitatea leziunilor poate fi influenţată şi de tipul glucidului din dieta administrată. Cu o dietă conţinînd 40% glucide şi 25% cazeină, administrată timp de un an la maimuţele Papis sp., s-a constatat: o afectare interesînd 11% din suprafaţa aortei cînd glucidul a fost reprezentat de fructoză, 9% la amidon, 6,5% la sucroză şi peste 6% la glucoză (KRITCHEVSKY 1974). Aşa cum demonstrează *tabelul XXIII*, dieta a produs hipercolesterolemie şi hipertrigliceridemie, cu valori mai ridicate ale trigliceridelor după fructoză şi sucroză, cînd şi dezvoltarea striurilor lipidice a fost mai evidentă. Rolul aterogen al fructozei este evidenţiat şi în investigaţii efectuate pe alte specii de maimuţe (KRITCHEVSKY şi col. 1974). Se menţionează că după cantităţi de 40—80 g sucroză pe zi, apar leziuni severe cu caracter proliferativ în arterele coronare, iar în miocard se pot evidenţia focare dege-

Scanned with OKEN Scanner

TABELUL XXIII

Efectul dietei bogate în variate tipuri de glucide asupra valorilor colesterolemiei, trigliceridemiei şi a colesterolului din β-lipoproteine (după KRITCHEVSKY 1974, cu permisiunea editurii Springer, Berlin – New York)

Glucidul dominant în dietă	Colesterolemia (mg/100 ml)	Trigliceridemia (mg/100 ml)	Colesterolul din β-lipoproteine (%)
Fructoza	162±10	129±11	66±1.1
Sucroza	152±9	116±8	65±1.3
Amidonul	156±8	108±5	64±1.0
Glucoza	151±11	105±7	63±1.0
Lotul martor	113±3	78±4	57±1.0

nerative şi necrotice. S-a mai constatat o tendinţă de creştere a capacităţii de agregare a trombocitelor, precum şi mărirea valorilor creatin fosfokinazei, aldolazei şi fosfatazei alcaline din plasmă (MURAKAMI şi col. 1974). Creşterea colesterolemiei după diete bogate în sucroză a variat între 125 şi 260 mg/100 ml; această creştere se asociază şi cu schimbări în *pattern*-ul lipoproteinelor. Astfel, raportul dintre lipoproteinele β şi pre β/α a fost găsit de 1,20 după fructoză, 1,17 după sucroză, 1,32 după glucoză şi 0,95 la maimuţele martor ţinute la diete standard (KRITCHEVSKY şi col. 1977). Se menţionează creşterea severităţii leziunilor dacă în dieta administrată maimuţelor amidonul este substituit cu sucroză şi lactoză. În timp ce amidonul favorizează formarea unor mici striuri lipidice, sucroza şi lactoza induc proliferări celulare din care rezultă plăci aterosclerotice (ARMSTRONG şi col. 1976).

În afară de conţinutul în lipide şi glucide, apariţia şi evoluţia leziunilor de ateroscleroză experimentală la maimuţe este influenţată şi de cantitatea şi tipul proteinei din dietă. Cînd proteinele animale furnizează aproximativ 20% din totalul caloriilor, se produc hipercolesterolemii; efectul hipercolesterolemiant dispare după ce cantitatea de calorii provenind din proteine animale a fost redusă sub 12% (SRINIVASAN şi col. 1977).

Relaţia dietă-leziune constatată la maimuţe şi ilustrată în experimentele menţionate este mult influenţată de susceptibilitatea transmisă genetic a animalului la factori aterogeni. Un studiu comparativ între maimuţele Macaca mulatta (rhesus) şi Macaca fascicularis (cynomolgus), supuse la aceeaşi dietă conţinînd 2% colesterol şi avînd 40% dintre calorii furnizate de gălbenuşul de ou, a evidenţiat, după 17 luni: creşterea colesterolemiei la Macaca mulatta de la 137 la 782 mg/100 ml, iar la Macaca fascicularis de la 187 la 526 mg/100 ml. Acest ultim lot deşi avea valorile colesterolemiei semnificativ mai reduse, a prezentat îngroşări intimale mai severe, alterări mai difuze ale limitantei elastice interne, fibroză mai densă a intimei, leziuni mai extinse, cristale de colesterol mai numeroase în plăci, transformări mai frecvente ale plăcilor în mase fibro-hialine. S-ar putea deduce, din rezultatele acestui studiu, că maimuţele din specia Macaca mulatta au reacţionat la dieta administrată, cu modificări similare hiperlipoproteinemiilor de tipul II, în timp ce maimuţele din specia Macaca fascicularis au reacţionat cu leziuni aterosclerotice severe (ARMSTRONG şi MEGAN 1974). Şi la alte specii de maimuţe, ca de exemplu Saimiri scireus s-a constatat, pe loturi considerate omogene din punct de vedere al vîrstei, sexului, modului de alimentaţie etc. că există: animale care răspund la diete bogate în colesterol prin creşterea progresivă a valo-

Scanned with OKEN Scanner

rilor colesterolemiei; animale la care valorile normale continuă să persiste în tot cursul experimentului. Tot în legătură cu rolul determinismului genetic în relaţia dietă-leziune, menţionăm că la Macaca mulatta, diete conţinînd 0,37% colesterol pe kg greutate sau 1 mg pe calorie, au determinat următoarele modificări ale colesterolemiei: la începutul experimentului 130—180 mg/100 ml; după patru săptămîni de administrare a dietei 320—560 mg/100 ml; după 12 săptămîni 250—760 mg; după 40 săptămîni 200—850 mg. Valorile maxime şi minime indică mari variaţii individuale într-un lot aparent omogen, sugerînd hiperreactivităţi şi hiporeactivităţi genetic condiţionate. La 4 săptămîni, deşi valorile colesterolemiei erau dublate la unele animale, modificările peretelui arterial păreau nesemnificative. La 12 săptămîni intima îngroşată conţinea doar striuri lipidice, macrofage şi celule musculare necrozate; la 40 săptămîni s-a produs o accentuare a proceselor degenerative şi necrozante, precum şi o extindere a suprafeţei ocupată cu leziuni (STARY 1976). La Macaca irus, leziunile apar rapid în prezenţa unei colesterolemii moderat crescute (350 mg/100 ml) şi au tendinţa de a se dezvolta nu numai în segmentele epicardice, ci şi în cele intramiocardice ale arterelor coronare, obstruînd lumenul şi producînd infarcte de miocard (KRAMSCH şi HOLLANDER 1968). Leziunile din arterele coronare apar înaintea celor din aortă, pe cînd la celelalte specii de maimuţe succesiunea este inversă. Deosebirile genetic condiţionate ale susceptibilităţii la ateroscleroză a diferitelor specii de maimuţe pot fi raportate şi la *patern*-uri specifice fiecărei specii, ale lipoproteinelor şi mai ales a constituenţilor glucidici ai acestor lipoproteine (PARGAONKAR şi col. 1977). Au fost de asemenea evidenţiate *patern*-uri specifice ale mucopolizaharidelor din ţesutul conjunctiv al peretelui arterial. Astfel, raportul heparan sulfat / condroitin sulfaţi + dermatan sulfat este semnificativ mai coborît la specia Papis sp. (baboon) comparativ cu alte specii şi această particularitate a fost corelată cu o rezistenţă crescută la ateroscleroza experimentală (RADHAKRISHNAMURTHY şi colab. 1978).

Datele existente în literatură sugerează că din punct de vedere al controlului genetic al metabolismului colesterolului se pot evidenţia diferenţe înalt semnificative nu numai între specii, clase şi subclase, ci şi între animale aparţinînd aceleiaşi subclase, aceluiaşi sex şi de vîrste similare. În linii mari intensitatea răspunsului la diete bogate în colesterol variază în felul următor: Saimiri sciureus (squirrel) > Ceropithecus aetiops (green) > Ateles sp. (spider) ≃ Macaca mulatta (rhesus) ≃ Erytrocebus pates (pates) > Pan troglodytes (cimpanzeu). În acest răspuns sînt incluse modificări ale *patern*-ului lipoproteinelor, ale absorbţiei, degradării şi excreţiei colesterolului, precum şi ale gradului de esterificare.

La toate maimuţele cu leziuni preexistente de ateroscleroză spontană, dieta bogată în colesterol a determinat o creştere semnificativă a conţinutului lipidic al leziunilor şi a tendinţei evolutive spre necroză. La anumite specii sau subclase această necroză a dus la transformarea plăcilor în ateroame şi la ulcerarea ulterioară a leziunilor apărute spontan. În plus aportul excesiv de grăsimi saturate, glucide şi proteine animale prin alimentaţie, a grăbit evoluţia leziunilor, potenţînd caracterul lor obstructiv. Toate investigaţiile cu acest subiect pledează, prin rezultatele lor, pentru valoarea unei alimentaţii raţionale.

Tot din studiul comparativ al leziunilor apărute spontan şi al celor produse experimental la maimuţe s-a mai constatat că în cursul histogenezei plă-

Scanned with OKEN Scanner

cilor spontan dezvoltate nu s-au observat creşteri ale colesterolemiei sau/şi trigliceridemiei, pe cînd în ateroscleroza experimentală se produce în mod constant o modificare în *patern*-ul lipoproteinelor (CHAWLA şi col. 1967). Apariţia leziunilor spontane de ateroscleroză are loc într-un perete arterial cu intima îngroşată, dar care conţine o cantitate de lipide similară cu cea indusă de înaintarea în vîrstă; în ateroscleroza experimentală cantitatea de lipide din peretele arterial creşte de 7—10 ori faţă de valorile fiziologice legate de procesul de îmbătrînire. În aortă, ateroscleroza spontană a maimuţelor afectează în medie 25% din suprafaţa vasului, cea experimentală peste 37%, grosimea intimei la nivelul leziunilor fiind de 0,34 mm în boala spontană şi de 0,81 mm în cea experimentală (MOHAN şi CHAKRAVARTI 1975).

2. LEZIUNI INDUSE LA PORCI

În afara uşurinţei procurării animalelor, un argument important pentru utilizarea lor îl constituie o anumită similitudine morfologică şi topografică a leziunilor cu cele din ateroscleroza de la om, mai ales la nivelul arterelor coronare. Omnivor, porcul consumă uşor variate diete experimentale, permiţînd o urmărire dinamică a modificărilor metabolice şi structurale.

Leziunile experimentale apar la porci începînd de la aproximativ trei săptămîni de administrare a unei diete bogată în colesterol, fiind precedate de creşterea ratei de multiplicare a celulelor musculare netede din media arterelor, diminuarea ratei de dispariţie a acelorași celule, migrarea lor din medie în intimă şi formarea unui ţesut conjunctiv intimal. Stimularea proliferării celulelor musculare netede din media arterelor nu implică valori crescute ale colesterolemiei, ci doar măriri nesemnificative, pînă la 150 mg/100 ml (LEE şi col. 1974). După două luni de dietă, valorile colesterolemiei ajung la 200—250 mg/100 ml şi încep să apară depuneri lipidice în peretele arterial, rezultînd apariţia striurilor. În acelaşi timp proliferarea celulară continuă atît în intimă cît şi în medie. Dacă dieta conţine cantităţi mai mari de colesterol, procesele de necroză apar mai repede şi sînt mai întinse şi mai severe. Aceste necroze afectează în primul rînd celulele musculare şi ele nu par a rezulta dintr-o supraîncărcare lipidică, ci dintr-o suprasolicitare funcţională a mitocondriilor, dintr-un dezechilibru între solicitare şi capacitate funcţională. S-a sugerat existenţa a trei faze în histogeneza leziunilor de ateroscleroză experimentală la porc (THOMAS şi colab. 1968): preproliferativă, proliferativă şi ateromatoasă. Faza preproliferativă s-ar caracteriza prin creşterea capacităţii de diviziune celulară, fără alte modificări ale peretelui arterial; faza proliferativă ar fi dominată de formarea de noduli de celule musculare netede în intima îngroşată; în sfîrşit, faza ateromatoasă ar rezulta din apariţia proceselor de necroză în leziunile experimentale. Rezultatele altor investigaţii sugerează că formarea plăcilor aterosclerotice poate fi considerată consecinţa apariţiei de eroziuni endoteliale. Microscopia electronică cu transmisie a imaginilor a evidenţiat zone de denudare a suprafeţei endoteliale după administrarea unei diete bogate în gălbenuş de ou (NELSON şi col. 1976). Aceste cratere ar constitui regiuni de reacţii locale ale celulelor musculare, de adeziune şi agregare trombocitară, placa rezultînd ca un răspuns la persistenţa eroziunii endoteliale.

Scanned with OKEN Scanner

Anumite tipuri de diete par să producă leziuni mai severe în arterele cerebrale decît în arterele coronare şi aortă. În acest sens se utilizează o dietă conţinînd 2% colesterol, 30% unt, 4% ulei de arahide şi 40% cazeină (IMAI şi THOMAS 1968). Întrucît unele dintre leziuni nu evoluează spre forme complicate şi nu au un caracter obstructiv suficient de pronunţat spre a apare ischemie miocardică sau cerebrală, s-a sugerat folosirea dietei asociată cu traumatizarea mecanică a peretelui vascular. În acest sens pot fi folosite iradiaţiile cu raze X, injecţiile cu tromboplastină, introducerea unui cateter în lumenul arterei etc. Astfel, prin introducerea unui caracter cu un mic balon terminal în aorta abdominală s-au putut produce, în 4—5 săptămîni, leziuni avansate de tipul plăcilor fibro-musculare, prezentînd şi zone calcificate şi zone necrozate. Administrarea concomitentă şi a unei diete bogate în colesterol a fost urmată de o creştere de aproximativ zece ori a cantităţii de colesterol acumulată în leziune şi de o triplare a valorilor colesterolemiei (CLOPATH 1978). În alte modele se foloseşte denudarea arterelor coronare şi aplicarea în jurul lor a unor electrozi de sîrmă prin care se introduce un curent electric. Rezultă formarea unui trombus, la început trombocitar, apoi fibrino-trombocitar, cu caracter ocluziv, ce va da naştere unui infarct de miocard în zona cu circulaţia întreruptă (IKRAM şi col. 1975). Administrarea şi a unei diete bogate în colesterol amplifică mult caracterul obstructiv prin mărirea cantităţii de lipide acumulată în leziune. Mai menţionăm valoarea modelului experimental al aterosclerozei obţinut la porc pentru demonstrarea efectelor hipolipemiante şi regresive ale clofibratului (AUGUSTYN şi col. 1978), precum şi a acidului nicotinic şi a derivaţilor săi (LUNDHOLM şi col. 1978).

3. LEZIUNI INDUSE LA IEPURI

a. OBSERVAŢII CU CARACTER GENERAL

Modelul experimental al aterosclerozei creat de ANICIKOV cu peste şase decenii în urmă este cel mai larg folosit şi mai bine studiat sub aspectul limitelor şi posibilităţilor. Defectul fundamental al acestui model este supraîncărcarea mecanismului de transport şi metabolizare a colesterolului la un animal vegetarian, rezultînd procese de tezaurizare şi nu leziuni de tipul celor din ateroscleroza de la om. Fiind necesare pentru apariţia leziunilor valori ale colesterolemiei ce depăşesc de 30—40 de ori pe cele normale, apar depuneri de colesterol nu numai în artere, ci şi în vene, ficat, splină, miocard, piele, ganglioni limfatici, tub digestiv, glande endocrine etc. Faza iniţială a aterosclerozei experimentale obţinută cu acest model este dominată de procesele neselective de tezaurizare lipidică; în ateroscleroza de la om faza iniţială este dominată de procese proliferative, selectiv localizate în intima arterelor mari şi mijlocii. Subliniem, de asemenea, că în ateroscleroza experimentală de la iepure nu se produce placa fibroasă, leziunea „prototip" a aterosclerozei de la om şi a celei spontane de la animale. Apar doar aspecte similare striurilor lipidice a căror semnificaţie în boala umană este încă neclară; anumite aspecte lezionale au fost descrise şi ca plăci lipidice. În sfîrşit, există deosebiri fundamentale între modelul experimental ANICIKOV şi ateroscleroza de la om şi în ceea ce priveşte teritoriul afectat de leziuni. La iepurele supus dietei bogate în colesterol acumulările lipidice apar în aortă, în timp ce arterele coronare şi

Scanned with OKEN Scanner

cerebrale rămîn frecvent indemne. La om, ateroscleroza se dezvoltă cu predilecție în arterele coronare și cerebrale, creînd baza lezională pentru manifestările clinice ale bolii sub aspectul infarctului de miocard și al accidentelor vasculare cerebrale. În consecință, folosind ca model experimental iepurele urmează să deducem investigînd aorta, ce s-ar putea petrece la om în arterele coronare și cerebrale. În lumina observațiilor menționate se pot înțelege rezervele formulate de foarte mulți autori asupra extrapolării rezultatelor obținute pe acest model experimental la ateroscleroza umană, ca și eforturile care se fac spre a se găsi noi modele mai adecvate acestui studiu.

În perspectiva istoriei medicinii, modelul experimental propus de ANICIKOV:

— reprezintă prima încercare de a demonstra rolul lipidelor sanguine și a colesterolului în special, în histogeneza leziunilor de ateroscleroză;

— a devenit un mijloc de testare a efectelor diferitelor tipuri de diete, medicamente hipolipemiante, hormoni, vitamine și alți factori sau agenți ce ar putea influența evoluția aterosclerozei experimentale;

— permite să se facă aprecieri asupra reversibilității acumulărilor lipidice din peretele arterial;

— oferă posibilitatea investigării aterosclerozei ca boală multifactorială și de a diferenția anumite modificări legate de înaintarea în vîrstă de cele induse prin diete bogate în colesterol;

— constituie, în anumite limite, o metodă de a testa validitatea observațiilor efectuate în cursul unor studii de epidemiologie.

Dieta cea mai frecvent utilizată pentru iepurele de casă conține 0,5—1% colesterol în 10—20 ml ulei de porumb, administrată trei sau patru luni; se mai poate administra colesterolul și în capsule, în gălbenuș de ou sau în lapte. După 20—30 de zile apar mici striuri lipidice pe arcul aortei și în zona superioară a segmentului toracic; la sfîrșitul lunii a treia de experiment striurile confluează și apar „leziuni" cu conținut lipidic mai bogat, impropriu denumite plăci lipidice. Dacă dieta se administrează timp de 5—6 luni, „leziunile" se extind și în segmentul abdominal al aortei, apărînd concomitent depuneri și în vene, precum și în numeroase organe și țesuturi, cu excepția creierului. În pancreas și testicul colesterolul acumulat crește linear cu valorile colesterolemiei; observații similare privesc ficatul, rinichiul, colonul, jejunul, miocardul, suprarenalele și țesutul adipos. În piele, splină, plămîni și mai ales în aortă, creșterea este exponențială în raport cu valorile colesterolemiei. După 9 luni de dietă, valorile colesterolului se măresc de peste zece ori în aortă, piele și splină, în timp ce în alte organe și țesuturi creșterea este de trei-cinci ori în comparație cu valorile normale (HO și col. 1974 a, b). Acest aspect de tezaurizare lipidică a sugerat considerarea modelului ANICIKOV similar hiperlipoproteinemiei de tipul II A, respectiv hipercolesterolemiei familiare și nu aterosclerozei. Mai menționăm că 10—12% dintre iepuri prezintă o rezistență naturală la acumulările de colesterol în peretele aortic, indiferent de valorile colesterolemiei. Această rezistență dispare uneori după administrarea de tiouracil.

În revenirile sale repetate asupra semnificației acestui model experimental, ANICIKOV (1967) consideră că faza inițială obținută este o simplă lipoidoză și nu o ateroscleroză. După depunerea lipidelor în peretele aortic se produc iritații locale, procese reactive, proliferări celulare și neoformări de fibre și în final formarea de leziuni de ateroscleroză.

Scanned with OKEN Scanner

După cum am mai menționat în capitolele anterioare, în modelul experimental bazat pe administrarea de diete bogate în colesterol celulele care formează striurile lipidice sînt în marea lor majoritate lipofage sanguine. Și din acest punct de vedere deosebirea este fundamentală față de striurile lipidice de la om, ale căror celule spumoase rezultă din încărcarea lipidică a elementelor musculare migrate din medie în intima arterei. La iepurele supus dietelor bogate în colesterol numărul lipofagelor sanguine crește progresiv, de la normalul de 0,00—0,03% la peste 7% (SUZUKI și O'NEALL 1967). Prezența lor în sîngele circulant este evidențiată prin colorarea frotiurilor cu Sudan.

b. RELAȚII DIETĂ-LEZIUNE

La animalele nou-născute colesterolemia este de aproximativ 180 mg/100 ml; către vîrsta de trei luni scade la femele la 45 mg, la masculi la 33,9 mg, apoi se stabilizează la femele între 110—150 mg, iar la mascul la valori cu o treime mai coborîte (LAIRD și col. 1970). Leziunile experimentale apar cînd colesterolemia a atins valori între 1 500—2 000 mg/100 ml, dezvoltarea lor asociindu-se cu o creștere importantă a consumului de oxigen în peretele arterial și a sintezei de acizi grași. Este elaborat în mod predominant acidul oleic care esterifică colesterolul liber ce se depozitează în lizozomi, transformînd macrofagul din intima arterei în element cu protoplasmă spumoasă. Hipercolesterolemia indusă de dietă mai este implicată și în potențarea sintezei endogene a colesterolului, prin dereglarea mecanismului *feedback* negativ care controlează această sinteză. După numai trei zile de dietă bogată în colesterol rata esterificării colesterolului în peretele arterial se dublează; în același timp se schimbă și *patern*-ul acestui proces, reducîndu-se foarte mult esterificarea fosfolipidelor și crescînd considerabil cea a colesterolului (DAY și PROUDLOCK 1974). Dintre numeroșii acizi grași liberi disponibili este utilizat în primul rînd, așa cum am mai menționat, acidul oleic, apoi în ordine descrescîndă acidul linoleic, arahidonic, palmitic, stearic și butiric (KOTHARI 1975). Un omogenat din peretele aortic al iepurelui de casă cu leziuni incipiente de ateroscleroză experimentală a prezentat o capacitate de esterificare a colesterolului liber cu acid oleic de 15—20 de ori mai mare decît omogenatul provenit din peretele arterial normal (HASHIMOTO și col. 1974).

Concomitent cu acumularea intracelulară a lipidelor se produce, sub acțiunea dietei bogate în colesterol, o potențare a ratei de multiplicare a celulelor musculare, în special a acelora migrate din medie în zona subendotelială. Din această multiplicare rezultă îngroșarea intimei care precede apariția leziunilor. Spre deosebire de ateroscleroza de la om, în care procesul de îngroșare intimală domină modificările legate de înaintarea în vîrstă, la iepure acest proces este condiționat numai de diete bogate în colesterol și are o intensitate mult redusă, în comparație cu alte modele experimentale (maimuță, porc, cîine). Mecanismul prin care colesterolul incită proliferarea pare a fi complex, implicînd acțiuni directe, descărcări de catecolamine și de mineralocorticoizi etc. Această proliferare este inhibată de glucocorticoizi, care întîrzie astfel apariția leziunilor și diminuează gradul lor de severitate (CAVALLERO și col. 1976).

Pentru a se accentua capacitatea colesterolului de a stimula proliferarea celulelor musculare netede și a se reduce cît mai mult aspectul de tezaurizare

Scanned with OKEN Scanner

lipidică cu caracter generalizat, modelul ANICIKOV a fost „îmbunătăţit" prin modificarea conţinutului dietei. S-au folosit în acest scop diete semisintetice, lipsite de colesterol, dar conţinînd 10—20% grăsimi saturate, precum şi diete sărace în colesterol şi grăsimi saturate, dar bogate în glucide sau/şi proteine animale. Ca urmare a utilizării acestor diete, valorile colesterolemiei scad de la 3 000—4 000 mg/100 ml la 260—300 mg/100 ml, devenind similare celor întîlnite la subiecţii consideraţi la risc. Tot ca urmare a folosirii acestor diete se reduce numărul lipofagelor circulante şi se schimbă histogeneza striurilor lipidice care nu mai provin numai din sechestrarea acestor macrofage (WILSON şi col. 1973). Efectul dominant al dietelor semisintetice este proliferarea celulelor musculare şi îngroşarea consecutivă a intimei, acumulările lipidice rămînînd pe un plan secundar. Inconvenientul major al acestor diete este rapida alterare a ficatului animalelor, cu degenerescenţă grasă şi mortalitate ridicată. Cu tot acest inconvenient respectivele diete capătă o tot mai largă utilizare, după 0,25% colesterol şi 6% ulei de porumb putîndu-se constata că nu există deosebiri între topografia leziunilor comparativ cu dieta clasică conţinînd 2% colesterol; aceste leziuni apar doar după un interval de timp mai lung şi au o dezvoltare mai lentă (ROACH şi col. 1978). Un alt tip de dietă fără colesterol, incluzînd 63,2% sucroză, 23,2% cazeină, săruri şi vitamine, produce colesterolemii între 240 şi 650 mg/100 ml şi leziuni cu topografie similară celor obţinute după diete bogate în colesterol (ROSS şi col. 1978). Mecanismul principal de acţiune al acestei diete ar fi potenţarea sintezei colesterolului endogen şi a β-lipoproteinelor care îl vehiculează. În sfîrşit mai menţionăm o dietă în care nu glucidele sînt considerate ca principal factor aterogen, ci proteinele animale şi în special cazeina. Această dietă nu conţine colesterol, nici grăsimi saturate, ci 27% cazeină şi 60% dextroză, dar produce hipercolesterolemie şi apariţia leziunilor. Caracterul aterogen al cazeinei poate fi demonstrat prin dispariţia efectelor hipercolesterolemiante ale dietei dacă proteina animală este înlocuită cu o proteină vegetală (din soia, de exemplu). Dacă sînt prezente şi cazeina şi proteina din soia, aceasta din urmă inhibă efectele aterogene ale cazeinei şi dieta nu mai produce hipercolesterolemie (HUFF şi col. 1977). Trebuie menţionat că folosind aceste diete semisintetice, afectarea suprafeţei aortice este relativ redusă, limitîndu-se în special la zonele din jurul orificiilor de emergenţă. Spre a se obţine leziuni pe o suprafaţă mare, este necesară asocierea colesterolului şi untului în dieta administrată. Astfel, se menţionează că prin această asociere s-au produs leziuni de ateroscleroză experimentală pe mai mult de 25% din suprafaţa aortei (0,5% colesterol şi 10% unt în dietă); dacă dieta conţinea numai unt suprafaţa afectată a fost de aproximativ 15%, dacă era prezent în dietă doar colesterolul suprafaţa afectată a fost de numai aproximativ 5% (BITTMAN şi col. 1976).

Un agent mult folosit spre a produce proliferarea celulelor musculare netede din peretele arterial este uleiul de arahide. Astfel, dacă se folosesc diete conţinînd ca lipide fie uleiul de arahide, fie uleiul de porumb sau uleiul de nucă de cocos (14% lipide, 25% cazeină, 40% glucide), după 10 luni de dietă valorile colesterolemiei se ridică la aproximativ 400 mg/100 ml şi al trigliceridemiei la 286 mg/100 ml. Cifrele cele mai mari se obţin, atît pentru colesterolemie cît şi pentru trigliceridemie, cînd este prezent în dietă uleiul de nucă de cocos (KRITCHEVSKY şi col. 1976). Raportul lipoproteinelor α/β a devenit 0,28 după uleiul de arahide, 0,28 după uleiul de porumb şi 0,13 după

Scanned with OKEN Scanner

uleiul de nucă de cocos care aparent acţionează în sensul cel mai aterogen. Suprafaţa afectată cu leziuni a fost de 25% din totalul suprafeţei aortei dacă lipidul din dietă a fost uleiul de nucă de cocos, 10% după uleiul de arahide şi numai 2% după uleiul de porumb. Aspectul morfologic cel mai apropiat de leziunile de ateroscleroză de la om a rezultat după dieta conţinînd uleiul de arahide. Aceste leziuni conţineau mai puţine lipide, dar prezentau proliferări nodulare ale celulelor musculare netede şi bogată neoformare de fibre de colagen. Uleiul de arahide conţine 7,48—12,45% acid palmitic, 41,35—67,44% acid oleic, 13,90—35,13% acid linoleic, 4,46—6,71% acid arahidic şi behenic (KRITCHEVSKY şi col. 1976). Aterogenicitatea s-ar datora prezenţei acizilor arahidic (eicosanoic 20:0) şi behenic (decosanoic 22:2) care dau trigliceridelor o structură specială. Prin procese de *randomizare* a acizilor graşi din uleiul de arahide s-a putut demonstra că structura trigliceridelor şi mai ales compoziţia lor în acizi graşi nesaturaţi reprezintă factorul aterogen principal. Dacă se administrează iepurilor o dietă conţinînd ulei de arahide preparat sintetic, fără acizii arahidic şi behenic, efectul aterogen dispare şi se obţin modificări similare celor produse de uleiul de porumb. Chiar dacă dieta conţine o mare cantitate de acizi graşi saturaţi (lauric, miristic, palmitic, stearic) efectele aterogene şi mai ales stimularea proliferării celulelor musculare netede nu apar atît de intense ca după uleiul de arahide cu proporţiile naturale de acizi arahidic şi behenic. Aşa se explică de ce untul introdus în dietă în locul uleiului de arahide produce încărcări lipidice mai severe ale leziunilor, dar incită mai puţin proliferarea celulară, leziunile apărînd sub aspectul striurilor lipidice şi nu al plăcilor fibroase.

4. LEZIUNI INDUSE LA ŞOBOLANI

După cum am mai menţionat, leziuni de ateroscleroză spontană, în general lipsite de conţinut lipidic, pot fi evidenţiate relativ frecvent în arterele şobolanilor hrăniţi cu diete standard, afectînd peste 60% dintre animalele bătrîne (HUMPHREYS 1964). Pe de altă parte şobolanii prezintă o rezistenţă deosebită la apariţia leziunilor cu bogat conţinut lipidic din ateroscleroza experimentală, fiind necesară adăugarea la dieta bogată în colesterol atît a colatului de sodiu, cît şi a tiouracilului. Cu ajutorul acestor substanţe se pot obţine striuri lipidice, plăci lipidice şi chiar leziuni trombozante. Afectarea aterosclerotică cuprinde artere de toate diametrele, în mai toate organele şi ţesuturile, fără selectivitate, ceea ce creează un tablou anatomo-patologic mult diferit de cel întîlnit în ateroscleroza de la om. Folosirea şobolanilor ca model experimental asigură însă posibilitatea de a lucra pe rase bine cunoscute din punct de vedere genetic şi de a putea astfel studia rolul aterogen al anumitor deficienţe metabolice ce se transmit din generaţie în generaţie. În plus, la şobolan dispunem de o informaţie bogată privind particularităţile metabolismului lipidic şi ale factorilor de coagulare, precum şi asupra structurii şi ultrastructurii arterelor mari.

Patern-ul lipoproteinelor la şobolani este caracterizat de valorile ridicate ale clasei α; sub acţiunea dietelor bogate în colesterol, aceste valori se reduc progresiv (NARAYAN 1971). Reduceri similare au fost observate în intoxicaţii, mai ales cu tetraclorură de carbon, precum şi după administrare de etionină, deficienţă de colină, hepatectomie parţială etc. Aceste observaţii au

Scanned with OKEN Scanner

dus la concluzia că transformarea terenului rezistent la ateroscleroză într-un teren susceptibil apariţiei leziunilor experimentale s-ar datora scăderii drastice a valorilor α-lipoproteinelor prin insuficienţă hepatică severă; aceasta ar duce implicit şi la concluzia că la şobolan ateroscleroza experimentală debutează cu o afectare primară hepatică.

Un aspect particular rezultă din raportul dintre rata acumulării şi rata degradării lipidelor în peretele arterial. Hipercolesterolemiile produc la şobolan nu o inhibare, ci o potenţare a esterazelor cu acţiune hidrolitică, rezultînd degradarea masivă a esterilor de colesterol neoformaţi şi absenţa acumulării lor în lizozomii celulelor din intimă. Pentru a apărea leziunile este necesară fie o creştere considerabilă a cantităţii de esteri de colesterol, care să depăşească capacitatea hidrolitică a enzimelor, fie o reducere a acestei capacităţi sub rata de formare a esterilor. Aşa se explică de ce la şobolan este nevoie de o cantitate dublă de lipide în dietă în comparaţie cu iepurele de casă (40% comparativ cu 20%) spre a apărea striul lipidic în aortă, sau este necesară acţiunea inhibantă a tiouracilului asupra esterazelor cu acţiune hidrolitică spre a se ajunge la formarea leziunilor. Rezultatele cele mai bune din punct de vedere al histogenezei leziunilor se obţin deci cu o dietă conţinînd lipide saturate pînă la 40% şi 0,3% tiouracil; această dietă favorizează acumularea esterilor de colesterol, în timp ce degradarea fosfolipidelor şi trigliceridelor îşi păstrează ritmul normal (PATELSKY şi col. 1968).

Un alt aspect particular al aterosclerozei experimentale de la şobolan îl reprezintă afectarea arterelor coronare. După 14—20 de luni de dietă conţinînd 30% unt şi 22% ulei de nucă de cocos, leziunile au apărut în arterele coronare la 87 din 143 de animale investigate, prezentînd următoarea topografie: 40% dintre leziuni în coronara stîngă, inclusiv ramurile intramiocardice; 35% dintre leziuni pe artera ce irigă muşchiul papilar al ventriculului stîng; 21% dintre leziuni în artera septului interventricular şi 4% dintre leziuni în arterele apexului (HUMPHREYS 1964). Dezvoltarea leziunilor nu a putut fi corelată cu valorile colesterolemiei, care, la multe animale a rămas sub 100 mg/100 ml. Unele leziuni conţineau depozite de fibrină, altele erau bogate în lipide, această heterogeneitate microscopică sugerînd mecanisme histogenetice diferite. Pe de altă parte striurile lipidice au fost observate numai la şobolanii cu valori peste normal ale colesterolemiei, fiind prezente atît în artere cît şi în endocardul ambelor ventricule.

Prezenţa reţelelor de fibrină în unele leziuni de ateroscleroză experimentală a sugerat folosirea unor diete „trombogene" spre a intensifica caracterul ocluziv al respectivelor leziuni. O astfel de dietă include 40% unt, 5% colesterol, 2% colat de sodiu, 0,3% tiouracil, 20% cazeină, 20,5% sucroză, vitamine şi săruri (HARTROFF şi O'NEAL 1962). Lipidele produc 69% din totalul caloriilor comparativ cu aproximativ 40% în alimentaţia populaţiei din ţările cu incidenţă foarte mare a infarctului de miocard. Dintre animalele care au supravieţuit, aproximativ o treime au prezentat aspecte macro şi microscopice de infarct de miocard, a căror prezenţă a coincis cu existenţa de tromboze ocluzive în arterele coronare. Infarctele au fost observate mai ales în zona apexului, în septul interventricular şi în peretele ventriculului stîng. Dacă sînt eliminate din dietă untul, sărurile biliare şi tiouracilul, numărul de infarcte şi suprafaţa afectată de ele scade considerabil, iar dacă untul este înlocuit cu ulei de porumb, infarctele nu se mai produc. Pe de altă parte, dacă în locul untului provenit din lapte este introdus unt de cacao, incidenţa

Scanned with OKEN Scanner

infarctelor creşte şi mai mult, trombozele în arterele coronare dezvoltîndu-se într-un interval de numai trei săptămîni. Mai menţionăm, în încheiere, că la şobolani, ca şi la maimuţe, porci şi iepure de casă, uleiul de arahide induce o proliferare masivă, frecvent nodulară, a celulelor musculare netede, dînd leziunilor aspectul de placă fibroasă.

5. LEZIUNI INDUSE LA CÎINI

Cîinii, ca şi şobolanii, fac parte din grupul animalelor de laborator rezistente la ateroscleroza experimentală; leziunile nu apar chiar dacă valorile colesterolemiei depăşesc 1 700 mg/100 ml. Dezvoltarea leziunilor poate însă fi obţinută prin adăugare de tiouracil la dieta bogată în colesterol, cu afectarea aortei, în special a segmentului abdominal, arterelor carotidă, femurală şi coronare. Intervalul necesar apariţiei leziunilor variază între 3 şi 21 de luni, iar nivelul colesterolemiei în acest interval se menţine între 1 029 şi 1 549 mg/100 ml (HAIMOVICI şi MAYER 1962). Afectarea coronarelor cu leziuni, unele cu caracter obstructiv, a fost evidenţiată la peste 62% dintre cîinii investigaţi, iar 6,6% dintre ei au prezentat şi infarcte de miocard. Caracterul stenozant al leziunilor obţinute la cîini este subliniat în numeroase investigaţii (HAIMOVICI şi MAYER 1962; MÄLMROS şi STERNBY 1968; ROBERTSON şi col. 1972). Un aspect particular al aterosclerozei experimentale de la cîine îl reprezintă apariţia leziunilor în media şi nu în intima arterelor. După ce leziunile s-au format în medie se produce degradarea lamelor elastice şi extinderea procesului patologic şi în intima vasului. Aspectul proliferativ al leziunilor predomină asupra acelui acumulativ, apropiind tabloul anatomopatologic de cel întîlnit în patologia umană.

Mecanismul histogenezei leziunilor este doar în parte cunoscut. S-a constatat că tiouracilul nu acţionează doar ca simplu inhibant al tiroidei, ci produce şi modificări complexe în peretele arterial. Administrat izolat la cîine el determină creşterea permeabilităţii endoteliale, formarea edemului subendotelial, migrări ale celulelor musculare din medie în intimă, acumulări de esteri de colesterol în lizozomii celulelor musculare migrate. În plus, tiouracilul măreşte sinteza de β -lipoproteine, potenţînd astfel afluxul de colesterol spre celulele musculare subendoteliale. Dacă tiouracilul este administrat împreună cu colesterolul, cantitatea de lipide pătrunsă în celulele musculare subendoteliale creşte şi mai mult, iar leziunile au o evoluţie mai severă (BUTKUS şi col. 1972). Alte modificări metabolice particulare aterosclerozei experimentale de la cîine privesc inhibarea sistemelor de conversie a acidului linoleic în acid arahidonic. Consecutiv deficienţei în acid arahidonic apar alterări cu caracter ireversibil în celulele musculare netede; la cîinii hrăniţi cu diete deficitare în acid linoleic şi bogate în acid linolenic, conţinînd şi 0,5 g de colesterol pe kg de greutate corporală şi 200 mg de tiouracil, au apărut leziuni severe după numai patru luni de dietă. Colesterolemia a crescut considerabil, de la 160 mg/100 ml la începutul experimentului, la 2 990 mg/100 ml după numai două luni de dietă, iar la patru luni depăşea 3 000 mg/100 ml (GUIDRY şi WEITING 1967). Adăugarea la dietă de acid linoleic a fost urmată de diminuarea considerabilă a valorilor colesterolemiei şi a severităţii leziunilor. Dacă două loturi de cîini sînt hrănite cu o dietă conţinînd 5% colesterol, la care se adaugă la primul lot 16% ulei de nucă de cocos hidrogenat, iar la al doilea lot 16%

Scanned with OKEN Scanner

ulei de şofran, se constată, după o perioadă de un an, apariţia de leziuni severe doar la primul lot căruia îi lipseau din dietă acizii graşi esenţiali. Tot la primul lot au fost observate în artere acumulări masive de esteri de colesterol, esterificarea fiind numai cu acid oleic, pe cînd la al doilea lot acumulările erau minime, iar esterificarea predominantă era cu acid linoleic. Menţionăm că uleiul de şofran include în compoziţia sa 75% acid linoleic (McCULLAGH şi col. 1976). Aceste rezultate sugerează importanţa absenţei acizilor graşi esenţiali pentru apariţia leziunilor de ateroscleroză experimentală la cîine şi posibilitatea prevenirii dezvoltării leziunilor prin aport adecvat de acid linoleic (BUTKUS şi col. 1976; McCULLAGH şi col. 1976).

6. LEZIUNI VARIA

La *pisică* hipercolesterolemia este produsă de o cantitate de minimum 2% colesterol în dietă. Administrată timp de o lună, această dietă ridică valorile colesterolemiei de la normalul de 105—150 mg/100 ml la 260—330 mg/100 ml. Concomitent se măreşte concentraţia de β-lipoproteine şi cantitatea de colesterol din fiecare macromoleculă (MANNING şi CLARKSON 1970). Leziunile au aspect de tezaurizare lipidică sub formă de striuri şi pot fi evidenţiate atît în peretele arterial, cît şi în numeroase organe şi ţesuturi. Afectarea extrem de rară a arterelor coronare şi caracterul neocluziv al leziunilor limitează valoarea acestui model experimental.

La *cobai*, diete conţinînd 2% colesterol, administrate timp de peste treizeci de săptămîni, produc trei tipuri de modificări: 1) acumulări de vacuole lipidice în celulele endoteliale, lărgirea spaţiilor dintre lamele elastice şi acumulare de substanţă fundamentală; 2) apariţia celulelor spumoase, unele cu protoplasma necrozată şi a cristalelor de colesterol; 3) formarea de leziuni cu centru necrotic şi acumulări importante lipidice (SIMPSON şi HARMS 1968 a). Modificări similare celor obţinute prin diete bogate în colesterol au fost observate după administrare de estrogeni ce potenţează sinteza endogenă a colesterolului. În special dietilstilbestrolul, administrat săptămînal, timp de şase săptămîni, în doze de 30 mg, produce leziuni severe care apar şi în arterele coronare. S-a subliniat evoluţia particulară a leziunilor de ateroscleroză experimentală de la cobai spre plăci fibro-hialine şi fibro-lipo-hialine, descriindu-se o lipohialinoză a arterelor coronare după o dietă conţinînd 1% colesterol, 10% unt şi 10% ulei de porumb, administrată timp de 9—16 săptămîni (MANNING şi col. 1974).

Puiul de găină a fost, în perioada 1940—1960, alături de iepurele de casă, modelul experimental de elecţie pentru studiul aterosclerozei. În ultimii ani interesul pentru acest model a scăzut considerabil datorită puţinelor puncte comune cu ateroscleroza de la om. Ca şi iepurele de casă, puiul de găină prezintă o hipercolesterolemie marcată după diete bogate în colesterol, cu formare relativ rapidă a leziunilor. Pe de altă parte, ca şi la cobai, puiul de găină dezvoltă leziuni de ateroscleroză experimentală după administrare de estrogeni, ca urmare a potenţării sintezei endogene a colesterolului. Atît leziunile produse prin diete bogate în colesterol, cît şi cele prin estrogeni, au o evoluţie particulară, ajungînd rapid la necroză, calcificare şi ulceraţie, dar nu se complică cu tromboze. Administrarea timp de o lună sau două a dietei conţinînd 2% colesterol, produce o creştere a valorilor colesterolemiei de la normalul de 125—145 mg/100 ml la 1 055—1 435 mg/100 ml. Această hipercolesterolemie ce depăşeşte de peste şapte ori valorile fiziologice, afectează toate elementele structurale ale peretelui arterial, începînd cu celulele endoteliale. Leziunile induse de hipercolesterolemie au o localizare predominantă în arcul aortic, în timp ce leziunile apărute spontan sînt localizate în special în segmentul abdominal al aortei. S-a mai constatat că: *a*) leziunile experimentale prezintă o distribuţie haotică, pe cînd cele apărute spontan sînt orientate cu axul longitudinal în direcţia de scurgere a coloanei sanguine; *b*) leziunile experimentale au un conţinut lipidic mult mai bogat comparativ cu cele spontane; *c*) leziunile experimentale conţin mult mai frecvent, comparativ cu cele spontane, cristale de colesterol şi centrii necrotici, dar sînt mai sărace în fibre de colagen; *d*) macrofagele sanguine participă la formarea leziunilor experimentale, în timp ce în histogeneza leziunilor spontane sînt implicate doar celulele musculare netede migrate din medie în intimă (MOSS şi BENDITT 1970).

Porumbelul este utilizat şi pentru studiul aterosclerozei experimentale, deşi rasa susceptibilă White Carneau are frecvent în artere leziuni spontane a căror prezenţă creează dificultăţi în interpretarea rezultatelor. Spre a se elimina acest factor de eroare se folosesc păsări

Scanned with OKEN Scanner

în vîrstă pînă la doi ani, la care leziunile spontane nu au apărut încă. După vîrsta de trei ani, porumbelul poate fi utilizat pentru a studia influenţa dietelor bogate în colesterol asupra histogenezei leziunilor spontane, sau modul cum modifică aceste diete evoluţia leziunilor preexistente. Prin administrarea de diete conţinînd colesterol marcat, s-a constatat că hipercolesterolemia se asociază cu potenţarea sintezei esterilor de colesterol şi cu o reducere a hidrolizei esterilor de colesterol neoformaţi, ambele tipuri de modificări contribuind la acumularea intracelulară a lipidelor. Cu cît placa ia un aspect evolutiv mai sever, cu atît devine predominantă din punct de vedere metabolic sinteza esterilor de colesterol (LOFLAND şi col. 1965). La rasa rezistentă, Show Racer, apariţia leziunilor este incertă chiar dacă se ajunge la valori foarte ridicate ale colesterolemiei şi la durate mari de administrare a dietei cu colesterol. Spre a se elimina aceste incoveniente numeroşi cercetători adaugă dietei ulei de arahide şi inhibitori ai tiroidei, dar chiar în aceste condiţii sinteza de esteri de colesterol reprezintă numai aproximativ 2/3 din cea obţinută la rasa susceptibilă. Anumite succese în formarea de plăci fibroase la rasa rezistentă sînt menţionate prin asocierea dietei bogate în colesterol, cu inhibitori tiroidieni, iradiaţii cu raze X şi traumatizarea mecanică a suprafeţei endoteliale. Leziunea astfel produsă este în mod incontestabil de origine multifactorială.

Scanned with OKEN Scanner

BIBLIOGRAFIE

ABDULLA Y. H., ADAMS, C. W. L. — *Atherosclerosis*, 1978, *31*, 473.
ABDULLA Y. H., ADAMS, C. W. M., BALYISS, O. B. — *J. Ateroscler. Res.*, 1969 a, *10*, 229.
ABDULLA Y. H. ADAMS, C. W. M., MORGAN R. S.—*J. Atheroscler. Res.*, 1969 b, *9*, 91.
ABDULLA Y. H., ORTON C. C., ADAMS, C. W. M.—*J. Ateheroscler. Res.*, 1968, *8*, 967.
ABRAHAMS J. N., NASH, D. T., GENSINI, G. G., ARNO T. J.—*J. Armer. Geriatr. Soc.*, 1978, *26*, 248.
ACOSTA D., WENZEL, D. G.—*Atherosclerosis*, 1974, *20*, 417.
ADAMEŞTEANU C., BABA A. I., ROTARU O., VESA S., BOCZ ST. — *Morfol. norm. patol.*, 1973, *18*, 447.
ADAMS C. W. M. — *Lancet*, 1959, I, 1075.
ADAMS C. W. M. — *Guy's Hosp. Rev.*, 1963, *112*, 222.
ADAMS C. W. M. — *Vascular Histochemistry*, Lloyd—Luke, Londra, 1969.
ADAMS C. W. M. — *J. Atheroscler. Res.*, 1968, *8*, 679.
ADAMS C. W. M. — *Brit. Med. J.*, 1976, I, 762.
ADAMS C. W. M. — in: Intern. Symp. „State of Prevention and Therapy in Human Atherosclerosis and in Animal Models" pp. 119-126 (Rheinisch. Westf. Akad. Wiss.), Westdeutschen Verlag, 1978.
ADAMS C. W. M., ABDULLA Y. H., — *Atherosclerosis*, 1978, *31*, 465.
ADAMS C. W. M. ABDULLA Y. H., BAYLISS O. B. — *Atherosclerosis*, 1971, *13*, 111.
ADAMS C. W. M., BAUYLISS O. B. — *J. Atheroscler. Res.*, 1969, *10*, 327.
ADAMS C. W. M., BAUYLISS O. B. — *Atherosclerosis*, 1973, *18*, 191.
ADAMS C. W. M., BALYISS, O. B., ABDULLA Y. H., MAHLER R. F., ROOT M. A. — *J. Atheroscler. Res.*, 1969, *9*, 87.
ADAMS C. W. M., BAYLISS, O.B., BAKER R. W., ABDULLA Y. H., HUNTERCRAIG C. J. — *Atherosclerosis*, 1974, *19*, 929.
ADAMS C. W. M., BAYLISS O.B., TURNER D. R. — *J. Path.*, 1975 a, *116*, 225.
ADAMS C. W. M., KNOX J., MORGAN R. S. — *Atherosclerosis*, 1975 b, *22*, 79.
ADAMS C. W. M., KNOX J., MORGAN R. S. — *Atherosclerosis*, 1975, c, *22*, 229.
ADAMS C. W. M., MORGAN R. S., BAYLISS O. B. — *Atherosclerosis*, 1973, *18*, 429.
ADAMS C. W. M., POSTON, R. N., MORGAN R. S. — *Virchow Arch.*, 1976, *371*, 53.
ADAMS C. W. M., TUQAN N. A. — *J. Path. Bact.*, 1961, *82*, 131.
ADAMS C. W. M., VIRAG S., MORGAN R. S., ORTON C. C. — *J. Atheroscler. Res.*, 1968, *8*, 679.
ADLESBERG D., WANG C. I., STRAUSS L. — *J. Mt. Sinai Hosp.*, 1957, *24*, 655.
AHRENS E. H. — *Ann. Int. Med.*, 1976, *85*, 87.
AKBAR HUZOOR, ARDLIE N. G. — *Brit. J. Haematol.*, 1978, *39*, 71.
ALAUPOVIC P., LEE L. M., McCONATH W. J.—*Biochim. Biophys. Acta*, 1970, *260*, 689.
ALBERTS, J. J., ADOLPHSON J. L., HAZZARD W. R. — *J. Lipid Res.*, 1977, *18*, 331.
ALBERTS J. J., CHEUNG M. C. — *Circulation*, 1976, *54*, suppl II, II-93.
ALBERTS J. J., HAZZARD W. R. — *Lipids*, 1974, *9*, 15.
ALEKSEEVA A. S. — *Cor et Vasa*, 1960, *2*, 215.

Scanned with OKEN Scanner

AUGUSTYN J. M., FRITZ K. E., DAOUD A. S., JARMOLICH J., LEI K. T. — *Arch. path. Lab. med.*, 1978, *102*, 294.
AUZERPY P., SOUIED G., RISSE R., DURAND A. — *Arch. int. med.*, 1978, *138*, 1 285.
AVOGARDO P., CAZZOLATO G., BITTOLOBON G., QUINCI G. B., CHINELLO M. — *Atherosclerosis*, 1978, *31*, 85.
AVTANDILOV G. G. — *Cor et Vasa*, 1965, *7*, 23.
AVTANDILOV G. G. — *Fed. Proc.*, 1966, *25*/III, 157.
AVTANDILOV G. G. — Dinamika aterosklerоticieskogo protessa i cieloveka. Mediţina, Moscova, 1970.
AYRES S. M., GIANELLI S., MUELLER H. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1970, *174*, 268.
BADER H., KAPAL E. — *Gerontologia (Basel)*, 1958, *2*, 253.
BAGDY D. — *Arch. mal coeur. vaiss.*, 1966, suppl. VIII, 91.
BAILEY A. J., ROBINS S. P., BALIAN G. — *Nature (Londra)*, 1974, *251*, 105.
BAILEY J. M. — Ciba Foundation Symposium N. S., 1973, *12*, 63.
BAILLE Y., SUDAN N., JAUSSERAN J. M., LEBREUL G., PAYAN H. — *Nouv. Presse Méd.*, 1974, *3*, 1 861.
BAKER A. B., FLORA G. C., RESCH J. A., LOEWENSON R. B. — *J. chronic Dis.*, 1967, *20*, 685.
BALINT A., VERESS B., JELLINEK H. — *Path. Europ.*, 1974, *9*, 105.
BALIS J. U., CHAN A. S., CONEN P. E. — *Expt. mol. Pathol.*, 1966, *5*, 396.
BALÓ J., BANGA I. — *Nature (Londra)*, 1949 a, *164*, 491.
BALÓ J., BANGA I. — *Schweiz. Z. Path. Bakt.*, 1949 b, *12*, 350.
BALÓ J., BANGA I. — IIIe Congr. Intern. Biochim., No. 3, pp. 120—129, Bruxelles, 1955.
BALTĂ N., CĂLÂLNĂ S., ORHA I. — Dinamica proceselor metabolice în ateroscleroză, Ed. Academiei R. S. România, Bucureşti, 1977.
BANGA I. — Structure and Function of Elastin and Collagen, Akademiai Kiado, Budapesta, 1966.
BANGA I., BALÓ J., SZABO D. — *Nature (Londra)*, 1956, *178*, 310.
BANGA I., SCHULER D. — *Acta Physiol. Acad. Sci. Hung.*, 1953, *4*, 13.
BARBORIAK J. J., PINTAR K., HORN D. V., BATAYIAS G. E., KORNS M. E. — *Atherosclerosis*, 1978, *29*, 69.
BARBORIAK J. J., PINTAR K., KORNS M. E. — *Lancet*, 1974, II, 621.
BĂRBULESCU A., ŞUŢEANU ST. — *Med. int.*, 1973, *25*, 711.
BĂRNES M. J., PARTRIDGE S. M. — *Biochem. J.*, 1968, *109*, 883.
BAROLDI G., RADICE F., SCHMID G., LEONE A. — *Amer. heart J.*, 1974, *87*, 65.
BARR D. P., RUSS E. M., EDER H. A. — *Amer. J. Med.*, 1951, II, 480.
BATAYIAS G. E., BARBORIAK J. J., KORNS M. E., PINTAR K. — *Circulation*, 1977, *56*, suppl. II, 18.
BATES C. J. — *FEBS Letters*, 1976, *72*, 235.
BAUMGARTNER H. R. — *Thromb. Diath. Haemorrh.*, 1974, suppl. 59, 91.
BAUMGARTNER H. R. — *Schweiz. Med. Woch.*, 1977, *107*, 717.
BAURLE W. — *Peitr. path. Anat.*, 1950, *111*, 108.
BEACONSFIELD P. — *Experientia (Basel)*, 1962, *18*, 274.
BEARD E. L. — *Thromb. Diath. Haemorrh.*, 1971, *25*, 134.
BEAUDET A. L., FERRY G. D., NICHOLS B. F., ROSENBERG H. S. — *Pediatr.*, 1977, *90*, 910.
BEAUMONT J.L. — *Europ. J. Clin. Biol. Res.*, 1970, *15*, 1037.
BEAUMONT J. L., BEAUMONT V. — în: Atherosclerosis III, pp. 579—590 (G.Schettler şi A. Weizel, editori), Springer, Berlin, 1970.
BEAUMONT J. L., DACHET C. — *Atherosclerosis*, 1973, *17*, 419.
BECKER C. G., HARDY A. M. — *Circulation*, 1973, *7*, suppl. 4, 44.
BECKER C. G., NACHMAN R. L. — *Amer. J. Path.*, 1973, *71*, 1.
BELL E. T., CLAWSON B. J. — *AMA Arch. Path.*, 1928, *5*, 939.
BELL F. P. — în: Low Density Lipoproteins, pp. 111—133 (Ch. E. Day şi R. S. Levy, editori), Plenum Publishing Corp., New York, 1976.
BELL F. O., GALLUS A., SCHWARTZ C. J. — *Expt. Mol. Pathol.*, 1974, *20*, 281.
BELON P. — *Path. Biol.*, 1978, *26*, 225.
BELOUSOV I. D., DUDAEV N. A., ŞMUŞKOVICI B. I., BOTAŞOVA M. M. — *Kardiologhiia*, 1977, *17*, 24.
BENDITT E. P. — *Circulation*, 1974, *50*, 650.
BENDITT E. P. — *Beitr. Path.*, 1976, *158*, 405.

Scanned with OKEN Scanner

BORN, G.V.R., în: Metabolism and Membrane Permeability of Erythrocytes and Thrombocytes, pp. 294-302 (E. Deutsch, editor), Schattauer, Stuttgart, 1969.
BORN G.V.R. — *Bull. Schweiz. Akad. Med. Wiss.*, 1976, *32*, 175.
BORNEMISZA P., ALDICA N., KÄDAR B., FELDMAN I., GHIȚĂ FI., ROZSNOYAI A., WIESEL E. — *Med.int.*, 1970, *22*, 1079.
BOROYAN R. — *Acta biol. med. Germ.*, 1976, *35*, 1083.
BORTZ W.M. — *Circulat. Res.*, 1968, *22*, 135.
BOSTON COLLABORATIVE DRUG SURVEILLANCE GROUP — *Brit. Med. J.*, 1974, I, 440.
BÖTTCHER C.J.F., KLYNSTRA F.B. — *Lancet*, 1965, I, 167.
BOUISSOU H., PIERAGGI M.Th., JULIAN M. — *Pharmacol. Res. Comm.*, 1978, *10*, 629.
BOWYER D.E., HOWARD A.N., GRESHAM G.A. — *Biochem.J.*, 1967, *103*, 54.
BOYER J.L. — *Amer. J. Cardiol.*, 1974, *32*, 784.
BRATTSAND R. — *Atherosclerosis*, 1975, *22*, 47.
BRATTSAND R., LUNDHOLM L. — *Atherosclerosis*, 1971, *14*, 91.
BREDT H. — *Beitr. Path. Anat.*, 1949, *110*, 295.
BREDT H. — în: Atherosclerosis II, pp. 1-44 (G. Schettler și G.S. Boya, editori), Elsevier, Amsterdam, 1969.
BROOKS C.J.W., STEEL G., GILBERT J.D., HARLAND W.A. — *Atherosclerosis*, 1971, *13*, 223.
BROWN B.G., FRY D.L. — *Cirulat. Res.*, 1978, *43*, 261.
BROWN D.F., KINCH S.H., DOYLE J.T. — *New Engl. J. Med.*, 1965, *273*, 947.
BROWN M.S., GOLDSTEIN J.L. — *Proc. Nat. Acad. Sci. Wsh.*, 1974, *71*, 788.
BROWN M.S., GOLDSTEIN J.L. — *Science*, 1976 a, *191*, 150.
BROWN M.S., GOLDSTEIN J.L. — *Trends Biochem. Sci.*, 1976 b, *1*, 193.
BROWN M.S., GOLDSTEIN J.L. — *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1976 c, *275*, 244.
BROWN M.S., GOLDSTEIN J.L., DANA S.I. — *J. biol. Chem.*, 1974, *249*, 789.
BROWN M.S., GOLDSTEIN J.L., VAN DEN BERGHE K., FRYNS J.P. și col. — *Lancet*, 1978, I, 526.
BRUCKNER I., STEINBACH M. — *Rev. Roum. Méd. int.*, 1975, *13*, 251.
BRUCKNER I., ZAMFIRESCU-GHEORGHIU M. — *Rev. Roum. Méd. int.*, 1969, *6*, 71.
BRUNNER D., ALTMAN S., LOEBL K., SCHWARTZ S., LEWIS S. — *Atherosclerosis*, 1977, *28*, 197.
BRUNZEL J.D., SCHROTT H.G., MOTULSKY A.G., BIERMAN E.L. — *Metabolism*, 1976, *25*, 313.
BRUSCHKE A.V.G., PROUDFIT W.L., SONES F.M. — *Circulation*, 1973, *47*, 115.
BUCHWALD H., SCHEIBEL R., AMPLATZ K., VARCO R.L., KNIGHT L. — *Surg. Forum*, 1972, *23*, 141.
BUDDECKE E., KRESSE H. — în: Le Rôle de la Paroi Artérielle dans l'Athérogenèse, pp. 691-711, CNSR, Paris, 1968.
BUDDECKE E., KRESSE H. — *Angiologica (Basel)*, 1969, *6*, 89.
BULKLEY B.H., HUTCHINS G.M. — *Circulation*, 1977, *55*, 163.
BURCH D.E. — *Amer. Heart J.*, 1972, *83*, 434.
BURCH D.E., De PASQUALE N.P. — *Amer. Heart J.*, 1962, *63*, 720.
BURCH D.E., De PASQUALE N.P. — *Amer. J. Med.*, 1964, 37, 159.
BURKE J. A., SCHUBERT W.K. — *Science*, 1972, *176*, 309.
BURKITT D.P., WALKER A.R.P., PAINTER J. — *J. Amer. Med. Ass.*, 1974, *229*, 1068.
BUTKUS A., EHRMART L.A., McGULLAGH K.C. — *Expt. mol. Pathol.*, 1976, *25*, 152.
BUTKUS A., ROBERTSON A.L., EHRHART L.A., LEWIS L.A. — *Expt. mol.Pathol*, 1972, *16*, 311.
BUTTLER W.T., CUNNINGHAM L.W. — *J. biol. Chem.*, 1966, *241*, 3882.
BYERS S.T., GRIEDMAN M. — *Clin. Res.*, 1963, *11*, 97.
CĂLUȘER I., MUREȘAN A. — *Morphol. Embryol.*, 1975, *21*, 305.
CĂLUȘER I., MUREȘAN A., FLORESCU P., OLTEANU M. — *Morphol. Embryol.*, 1975, *21*, 125.
CAMEJO G., WAICH S., QUINTERO G., BERRIZBEITIA M.L., LALAGUNA F. — *Atherosclerosis*, 1976, *24*, 341.
CAMERON A., KEMP H.G., SHIMOMURA S., SANTILLI E., GREEN G.E., HUTCHINSON J.E. — *N.Y. State J. Med.*, 1977, *77*, 27.
CAPLAN B.A., SCHWARTZ C.J. — *Atherosclerosis*, 1973, *17*, 401.
CARELLA J.A., SILBER I. — *J. Pediatr.*, 1976, 88, 987.
CAREW T.E., PATEL D.J. — *Atherosclerosis*, 1973, *18*, 179.
CARLSON L.A., BOETTINGER L.E. — *Lancet*, 1972, I, 865.

Scanned with OKEN Scanner

DUSTIN G. J., MONCADA S., VANE J. R. — *Prostaglandins*, 1977, *13*, 3.
EASTOE J. E. — in: Treatise on Collagen, pp. 1—72 (G. N. Ramachandran, editor), Academic Press, New York, 1967.
EFEL A. — *C. R. Soc. Biol. (Paris)*, 1962, *156*, 503.
ECKERT H., BRASELMAN H., KUNZ J., POPPEI M., SCHEER E. — *Exp. Path.*, 1971, *5*, 88.
EDWARDS I. R., SMITH S. A. — *Clin. Science*, 1972, *43*, 133.
EGAN R. W., HUMES J. L., KUEHL F. A. — *Biochemistry*, 1978, *17*, 2230.
EGGEN D. A., STRONG J. P., McGILL H. C. — *AMA Arch. Path.*, 1964, *78*, 575.
EGGEN D. A., SOLBERG L. A. — *Lab. Invest.*, 1968, *18*, 561.
EHRICH J. C., SHINCHARA Y. — *AMA Arch. Path.*, 1964, *78*, 432.
EHRLICH K. C., RADHAKRISHNAMURTHY B., BERENSON G. S. — *Arch. Biochem. Biophys.*, 1975, *171*, 361.
ELLESTAD M., HALLIDAY W. K. — *Angiology*, 1977, *28*, 149.
ELLIS C. N., JULIUS S. — *Amer. J. Cardiol.*, 1975, *36*, 708.
ELLIS E .F., OATES J. A. — *Circulation*, 1976, *54*, suppl. II, 197.
ENESCU I., TRIANDAF I., BABEL E. — *St. cerc. ştiinţ. (Iaşi)*, 1962, *13*, 239.
ENGEL H. J., HUNDESHAGEN M., LICHTLEN P. — *Brit. Heart J.*, 1977, *39*, 477.
ENGELBERG H. — *Fed. Proc.*, 1977, *36*, 70.
ENOMOTO H., YOSHIKUNI Y., SAITO K., OZAKI T., OHATA K., ZSCHOCKE R. — *Atherosclerosis*, 1978, *30*, 109.
ENOS W. F., HOLMES R. H., BEYER J. — *J. Amer. Med. Ass.*, 1953, *152*, 1090.
EPSTEIN F. H. — *Atherosclerosis*, 1974, *14*, 1.
FABRISZEWSKI R., WOROWSKI K. — *J. Atheroscler. Res.*, 1968, *8*, 988.
FAJARADO L. F. — *Amer. J. clin. Path.*, 1975, *63*, 554.
FANTL P., WARD H. A. — *Biochem. J.*, 1965, *96*, 886.
FARBER M., MOLLER-HOU G. — *Acta pathol. microbiol. Scand.*, 1952, *31*, 377.
FARKAS J., ANGEL A., AVIGNAN M. I. — *J. Lipid. Res.*, 1973, *14*, 344.
FASSINA G. — *Giorn. Arterioscler.*, 1976, *1*, 7.
FAVALORO R. G. — *Ann. Thoracic Surg.*, 1969, *5*, 334.
FAVALORO R. G., EFFLER D. B., GROVES L. K., SHELDON W. C., SHIRWEY E. K., SONES F. M. — *J. Thoracic Cardiovasc. Surg.*, 1970, *60*, 469.
FEINLEIB M., DAVIDSON M. J. — *J. Amer. Med. Ass.*, 1972, *222*, 1129.
FERLINZ J., ARONOW W. S. — *Clin. Med.*, 1976, *83*, 15.
FILIPOVIC I., BUDDECKE E. — *Europ. J. Biochem.*, 1971, *20*, 587.
FILIPOVIC I., BUDDECKE E. — *Artery*, 1978, *4*, 243.
FILIPOVIC I., KRESSE H., BUDDECKE E. — *Europ. J. Biochem.*, 1973, *36*, 544.
FILIPOVIC I., RUTENMÜLLER M. — *Atherosclerosis*, 1976, *24*, 457.
FISCHER-DZOGA K., WISSLER R. W. — *Atherosclerosis*, 1976, *24*, 515.
FLATHERY J. T., FERRANS V. J., PIERCE J. E., CAREN T. E., FRY D. L. — in Atherosclerosis and Coronary Artery Disease, pp. 548—583 (W. Likoff, editor), Grune and Stratton, New York, 1972.
FLEISCHMAN A. I., BIERENBAUM M. L., JUSTICE D., STIER A., SULLIVAN A. — *Thrombosis Res.*, 1975, *6*, 205.
FLORA G. C., BAKER A. B., KLASSEN A. C. — *J. neurol. Sci.*, 1968, *6*, 357.
FONTAINE M., MALMENDIER C. L. — *Atherosclerosis*, 1978, *30*, 285.
FONTAINE R., BOLLACK C., EBEL A., PANTESCO V. — in: Le Rôle de la Paroi Artérielle dans l'Athérogenèse, pp. 913—933, CNSR, Paris, 1968.
FØRDE O. H., THELLE D. S., MILLER N. E., MJO S. O. D. — *Acta Med. Scand.*, 1978, *203*, 21.
FORMAN D. T., CHOI S. S., TAYLOR C. B. — *AMA Arch. Path.*, 1968, *85*, 80.
FORSDAHL A. — *Brit. J. Prev. Soc. Med.*, 1977, *31*, 91.
FORSDAHL A. — *J. Epidemiol. Comm. Health*, 1978, *32*, 34.
FOURTILLAN J. B., RAZAKA G., RABAUD M., DUPIN J. P., DALLOCHIO M., CROCKET R., BRICAUD M. — *Paroi Artérielle (Paris)*, 1973, *1*, 51.
FOX H. — Diseases in Captive and Wild Mammals and Birds, Lippincot, Philadelphia, Pa, 1923.
FRAMINGHAM STUDY — An epidemiological investigation of cardiovascular disease. Section 23. Goverrment Printing Office, Washington, 1970.
FRANK G. C., BERENSON G. S., WEBBER L. S. — *Amer. J. Clin. Nutr.*, 1978, *31*, 328.
FRANK G. C., VOORS A. W., SCHILLING P. E., BERENSON G. S. — *J. Amer. Diet. Ass.*, 1977, *71*, 31.

Scanned with OKEN Scanner

IGNATOVA L. N. — *Biul. eksper. Biol. Med.*, 1960, *50*, 42.
IGNATOWSKI A. — *Arch. Méd. exper.*, 1908, *20*, 1.
IKRAM H., NICHOLES J. C., FLEMMING D. C. — *Angiology*, 1975, *26*, 356.
ILIESCU C. C. — Infarctul de miocard. Ed. Stat Lit. Ştiinţifică, Bucureşti, 1953.
ILIESCU C. C., ROMAN L. — *Med. int.*, 1962, *5*, 521.
ILINSKI B. V., BABADJAVOV S. N. — *Kardiologhiia*, 1975, *15*, 142.
IMAI H. — *Fed. Proc.*, 1975, *34*, 3356.
IMAI H., THOMAS W. A. — *Expt. mol. Pathol.*, 1968, *8*, 330.
INNERARITY T. L., MEHLEY R. W., WEISGRABER K. H. — *J. biol. Chem.*, 1978, *253*, 6928.
INSULL W. — în: Atherosclerosis III, pp. 11—13 (G. Schettler şi A. Weizel, editori), Springer, Berlin, 1974.
INTERSOCIETY COMISSION FOR HEART DISEASE RESOURCES — *Circulation*, 1970, *42*, 55.
INTROP H. W., MILGROM F., WITEBSKY E. — *J. Immunol.*, 1969, *102*, 1404.
INVERIUS P. H. — *J. biol. Chem.*, 1972, *247*, 2607.
IVERIUS F. H. — în: Atherogenesis. Initiating Factors, pp. 185—193, Ciba Foundation Symposium No. 12, Elsevier, Amsterdam, 1973.
IWATSUKI K., CARDINALE G. J., SPECTOR S., UDENFRIED S. — *Science*, 1977, *198*, 403.
JACKSON R. L., GOTTO A. M. — *Atheroscler. Rev.*, 1976, *1*, 1.
JACKSON R. L., STEIN O., GLANDGEAUD M. C., FAINARU M., GOTTO A. M., STEIN Y. — în: Atherosclerosis. Drug Discovery, pp. 453—461 (C. E. Day, editor), Plenum Press, New York, 1975.
JACKSON S. H. — *Clin. chim. Acta*, 1973, *45*, 215.
JAFFÉ D., HARTROFT S. W., MANNING M., ELETA G. — *Acta Pediatr. Scand.*, 1971, suppl. 219, 3.
JAFFE E. A., NACHMAN R. L., BECKER C. G., MINICK C. R. — *J. Clin. Invest.*, 1973, *52*, 2745.
JAGANNATHAN S. N., CONNOR W. E., BAKER W. H., BHATTACHARTYA A. K. — *J. clin. Invest.*, 1974, *54*, 366.
JAMIESON G. A., SMITH D. F., KOSAW D. P. — *Thromb. Diath. Haemorrh.*, 1975, *33*, 668.
JAQUES L. B. — în: Heparin: Structure, Function, Clinical Implications, pp. 139—147 (R. A. Bradsaw şi S. Wessler, editori), Advances in Experimental Medicine and Biology, vol. 52, 1975.
JAQUES L. B. — *Artery*, 1978, *4*, 144.
JARMOLYCH J., DAOUD A. S., FRITZ K. E., AUGUSTYN J. M., SINGH J. K., KIM D. N. — *Arch. Path. Lab. Med.*, 1978, *102*, 289.
JDANOV V. S. — *Bull. WHO*, 1976, *53*, 563.
JDANOV V. S., VIKHERT A. M. — *Kardiologhiia*, 1975, *15*/12, 42.
JDANOV V. S., VIKHERT A. M. — *Arhiv Patologhii*, 1976, *37*/2, 51.
JELLINEK H., NAGY Z., HÜTTNER I., BALINT A., KÓCZÉ A., KERÉNYI T. — *Brit. J. exp. Path.*, 1969, *50*, 13.
JENKINS C. D. — *New Engl. J. Med.*, 1976, *294*, 987.
JENSESN J., BLANKENHORN D. H., KORNERUP V. — *Circulation*, 1967, 36, 77.
JEZKOVA Z., POKORNY J. — *Angiologica*, 1967, *4*, 359.
JÖBSIS F. F. — în: Handb. Physiol., Sect 3: Respiration, pp. 63—124 (W. O. FENN şi H. RAHN, editori), American Physiological Society, Washington, 1964.
JÖBSIS F. F., ROSENTHAL M. — în: Cerebral Vascular Smooth Muscle and its Control, pp. 129—143, Ciba Foundation Symposium No. 56, Elsevier, Amsterdam, 1978.
JOHANSSON B. G., NILSSON-EHLE P. — *New Engl. J. Med.*, 1978, *298*, 311.
JOHNSON W. D., FLEMMA R. J., LEPLEY D. — *Ann. Thoracic Surg.*, 1970, *9*, 436.
JOHNSON W. D., LEPELY D. — *J. Thoracic Cardiovasc. Surg.*, 1970, *59*, 128.
JONES R., VESSELINOVITCH D., WISSLER R. W. — *Amer. J. Path.*, 1973, *70*, 88.
JORES L. — *Beitr. path. Anat.*, 1898, *24*, 458.
JØRGENS J. — în: Calcification of the Heart, pp. 183-206 (H. Shapiro, editor), Charles C. Thomas, Springfield, Ill., 1963.
JØRGENSEN L. — în Thrombosis, Mechanism and Control, pp. 309-314 (K. M. Brinkhous, editor), Schattauer, Stuttgart, 1973.
JØRGENSEN L., ROWSELL H. C., HOVIG T., GLYNN M. F., MUSTARD J. F. — *Lab. Invest.*, 1967, *17*, 161.

Scanned with OKEN Scanner

MOORE M.C., GUZMAN M.A., SCHILLING P.E., STRONG J.P. — *J. Amer. Diet. Ass.*, 1976, *68*, 216.
MOORE M.C., GUZMAN M.A., SCHILLING P.E., STRONG J.P. — *J. Amer. Diet. Ass.*, 1977, *70*, 602.
MOORE S. — *Lab. Invest.*, 1973, *29*, 478.
MOORE S., FRIEDMAN R.J., SINGAL D.P., GAULDIE J., BLAJCHMAN M. — *Thromb. Diath. Haemorrh.*, 1976, *35*, 70.
MORE R.H., MOVAT H.Z., HAUST M.D. — *AMA Arch. Path.*, 1957, *63*, 612.
MORET V., SERAFINI-FRACASSINI A., GOTTE L. — *J. Atheroscler. Res.*, 1961, *4*, 184.
MORGAN R.S., ADAMS C.W.M. — *Atherosclerosis*, 1974, *19*, 347.
MÖRNER R.S. — *Z. Physiol. Chem.*, 1895, *20*, 357.
MORRISON E.S., SCOTT R.F., FRICK J., KROMS, M. — *Circulation*, 1971, *43*, suppl. II, 7.
MORRISON L.H., BAJWA G.S., ALFIN-SLATER R.B., ERSHOFF B.H. — *Atherosclerosis*, 1972, *16*, 105.
MORRISON L.H., ERSHOFF B.H., BAJWA G.S., SCHJEIDE A.O., ALFINSLATER R. B., ENRICK M.L. — în: Atherosclerosis *III*, pp. 339—346 (G. Schettler şi A. Weizel, editori), Springer, Berlin, 1974.
MORRISON L.M. — J. *Amer. Geriatr. Soc.*, 1968, *16*, 779.
MOSCHOS C.B., LAHIRI K., LYONS M., WEISSE A.B., OLDEWURTEL H.A., REGAN T.J. — *Amer. Heart J.*, 1973, *86*, 61.
MOSCHOS C.B., OLDEWURTEL H.A., HAIDER B., REGAN T.J. — *Circulation*, 1976, *54*, 653.
MOSESSON M.W. — în: Seminars in Thrombosis and Hemostasis, pp. 63—84, Schattauer, Stuttgart, 1974.
MOSESSON M.W., FINLAYSON J.S., GALANAKIS D.K. — *J. biol. Chem.*, 1975, *248*, 7913.
MOSS N.S., BENDITT E.P. — *Lab. Invest.*, 1970, *23*, 521.
MÖTTÖNEN M., PANTIO M., NIEMINEN L. — *Atherosclerosis*, 1972, *15*, 77.
MOTULSKY G., BOMAN H. — în Atherosclerosis III, pp. 438—445 (G. Schettler şi A. Weizel, editori), Springer, Berlin, 1974.
MRHOVÁ O., ZEMPLÉNYI T., LOJDA Z. — *J. Atheroscler. Res.*, 1963, *3*, 44.
MUIR L., BORSTEIN W., ROSS R. — *Europ. J. Biochem.*, 1976, *64*, 105.
MÜLLER E. — *Beitr. path. Anat.*, 1949, *110*, 103.
MULLINGER R.N., MANLEY G. — *J. Atheroscler. Res.*, 1969, *9*, 108.
MUNDTH E.D. — *Circulation*, 1976, *53*, suppl. I, 176.
MURAKAMI M., SEKIMOTO H., NKADA I., NAKAMURA K., TAKORI M., în: Atherosclerosis III, pp. 330—332 (G. Schettler şi A. Weizel, editori), Springer, Berlin, 1974.
MURATA K. — *J. Atheroscler. Res.*, 1969, *10*, 371.
MURATA K., FURUHASHI T. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1969, *176*, 432.
MURATA K., HADARA T., OKUBO K. — *J. Atheroscler. Res.*, 1968, *8*, 951.
MURATA K., IZUKA K., FURUHASHI T. — *Experientia*, 1969, *25*, 611.
MURATA K., IZUKA K., NAKAZAWA K. — *Atherosclerosis*, 1978, *29*, 95.
MURATA K., NAKAZAWA K., HAMAI A. — *Atherosclerosis*, 1975, *21*, 93.
MURATA K., QUILLIGAN J.J., MORRISON L.M. — *Biochem. Biophys. Acta*, 1967, *144*, 473.
MUREŞAN A. — în: Morfopatologia aparatului cardiovascular, pp. 423—444 (E.C. Crăciun, editor), Ed. Acad. R.S. România 1959.
MUSTARD J.F. — *Expt. mol. Pathol.*, 1967, *7*, 366.
MUSTARD J.F. — în: Thromboembolism. A New Approach to Therapy, pp. 3—18 (J.R.A. Mitchell şi J.G. Domenet, editori), Academic Press, New York, 1977.
MUSTARD J.F., MOORE S., PACKHAM M.A., KINLOUGH-RATHBONE R.L. — *Progr. biochem. Pharmacol.*, 1977, *14*, 312.
MUSTARD J.F., PACKHAM M.A. — *Thromb. Diath. Haemorrh.*, 1975, *33*, 444.
MUTHIAH P.L. — *Artery*, 1978, *4*, 183.
MYERS V.C., LANG W.W. — *J. Gerontol.*, 1946, *1*, 441.
NAEYE R.L. — *Circulation*, 1976, 54, suppl. II, 212.
NANDA B.S., GETTY R. — *Zbl. vet Med.*, 1972, *19*, 611.
NARAYAN K.A. — *Atherosclerosis*, 1971, *13*, 205.
NEGOIŢĂ C.I. — *Med. int.*, 1971, *23*, 325.

Scanned with OKEN Scanner

ROBERT B., ROBERT L., LEGRAND Y., PIGNAUD G., CAEN J. P. — *Serol. Haematol.*, 1971, *4*, 175.
ROBERT L. — în: *Atherosclerosis II*, pp. 59—68 (R. J. Joes, editor) Springer, Berlin, 1970.
ROBERT L. — *Presse Méd.*, 1971, *79*, 2277.
ROBERT L., MEDEMA J., HOUTMAN J. P. W. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1970, *214*, 235.
ROBERT L., POULLAIN N. — *Bull. Soc. Chim. Biol.*, 1963, *45*, 1317.
ROBERT L., ROBERT A. M. — *Exp. Gerontol.*, 1970, *5*, 339.
ROBERT L., ROBERT A. M., ROBERT B. — *Exp. Ann. Biochim. Méd.*, 1972, *31*, 111.
ROBERT L., ROBERT B. — în: Protides of the Biological Fluids, pp. 143—148 (H. Peters, editor), Elsevier, Amsterdam, 1967.
ROBERT L., ROBERT B. — Bibliotheca Nutritio et Dieta Nr. 13, pp. 123—130 (J. C. Somogy, editor), Karger, Basel, 1969.
ROBERT L., ROBERT B. — *Exp. Ann. Biochim. Méd.*, 1971, *30*, 189.
ROBERTS W. C. — *Circulation*, 1972, *45*, 215.
ROBERTS W. C. — *Circulation*, 1973, *48*, 1164.
ROBERTSON A. L. — *Fed. Proc.*, 1963, *22*, 161.
ROBERTSON A. L. — în: Lipid Metabolism in Tissue Culture Cells, pp. 115—135 (G. H. Rothblat şi D. Kritchevsky, editori), Wistar Institute Press, Philadelphia, 1967.
ROBERTSON A. L. — *Amer. J. Path.*, 1974, *74*, 49.
ROBERTSON A. L. — *Circulation*, 1976, *54*, suppl. II, 56.
ROBERTSON A. L., BUTKUS A., EHRHART L. A., LEWIS L. A. — *Atherosclerosis*, 1972, *15*, 307.
ROBERTSON J. H. — *J. clin. Path.*, 1960, *13*, 133.
ROBERTSON T. L., KATO H., GORDON T. şi col. — *Amer. J. Cardiol.*, 1977 a, *39*, 244.
ROBERTSON T. L., KATO H., RHODAS G. G. şi col. — *Amer. J. Cardiol.*, 1977 b, *39*, 239.
ROBERTSON W. B., STRONG J. P. — *Lab. Invest.*, 1968, *18*, 538.
RODBARD S. — în: Atherosclerosis III, pp. 43—63 (G. Schettler şi A. Weizel, editori), Springer, Berlin, 1974.
RODBARD S., LEHOCZKY J. M., TERNER J. Y., McCANDLESS E. L. — în: Metabolismus Parittis Vasorum, pp. 696—698 (B. Prusik, Z. Reiniś şi O. Riedl, editori), Praga, 1962.
RODEN L. — în: Metabolic Conjugation and Metabolic Hydrolysis, vol.2, pp. 345-442, Academic Press, New York, 1970.
ROGOT E. — *Publ. Health Rep.*, 1974, *89*, 330.
ROKITANSKY C. — Manual of Pathological Anatomy (translated by G. E. Day), vol. 4, The Sydenhan Society, Londra, 1852.
ROMHÁNYI Gy. — *Nature (Londra)*, 1958, *182*, 929.
ROMHÁNYI Gy. — *Acta Histochem.*, 1959, *8*, 340.
ROMHÁNYI Gy. — *Acta morphol. Acad. Sci. Hung.*, 1965, *13*, 397.
RÖNNEMAA T., JUVA K., KULONENE E. — *Atherosclerosis*, 1975, *21*, 315.
ROSE G. — *Amer. Heart. J.*, 1973, *85*, 838.
ROSENMAN R. H. — *Psycholer. Psychosom.*, 1968, *16*, 335.
ROSENMAN R. H., FRIEDMAN M., STRAUSS R. şi col. — *J. chronic Diss.*, 1970, *23*, 173.
ROSENMAN R. H., SHOLTZ R. I., BRAND R. J. — *Circulation*, 1976, *54*, 51.
ROSS A. C., MINICK C. R., ZILVERSMIT D. B. — *Atherosclerosis*, 1978, *29*, 301.
ROSS R., GLOMSET J. A. — *New Engl. J. Med.*, 1976, *295*, 369.
ROSS R., GLOMSET J. A., HARKER L. — în: Cerebrovascular Diseases pp. 115—120 (P. Scheinberg, editor), Raven Press, New York, 1976.
ROSS R., GLOMSET J. A., KARIYA B., HARKER L. — *Proc. Nat. Acad. Sci.* Wsh., 1974, *71*, 1207.
ROSSI G. B., MANCINI M., ORIENTE P., VECCHIONE A., VECCHIONE R., CERQUA R., CIZZUPOLI M. — *J. Atheroscler. Res.*, 1965, *5*, 569.
RÖSSLE R. — *Virchow Arch. path. Anat.*, 1944, *252*, 311.
RÖSSNER S., KJELLIN K. G., METTINGER K. L., SIDÉN A., SÖNDESTRÖM C. E. — *Atherosclerosis*, 1978, *30*, 199.
RÖSSNER E., ROSENQVIST U. — *Atherosclerosis*, 1974, *20*, 365.
ROTHFELD B., KARMEN A., HUNTER C. F., VARADY A. — *Biochem. Med.*, 1971, *5*, 1.
ROUNDS D. E., BOOHER J., GUERRERO R. R. — *Atherosclerosis*, 1976, *25*, 183.

Scanned with OKEN Scanner

VIK-MO H. — *Thromb. Diath. Haemorrh.*, 1975, *33*, 519.
VILLA S., MYSLIVEC M., GAETANO G. — *Lancet*, 1977, I, 1216.
VIRCHOW R. — *Arch. path. Anat.*, 1854, *6*, 562.
VIRCHOW R. — In: Gesammelte Abhandlungen zur wissenschaftlichen Medizin, pp. 458–636. Max Hirsch, Berlin 1956 a.
VIRCHOW R. — Thrombose und Phlogose in Gefässystem. Maininger, Frankfurt, 1856 b.
VIRCHOW R. — Die Cellular pathologie in ihrer Begründung auf physiologische und pathologische Gewebslehre. Max Hirsch, Berlin, 1862.
VLAICU R., POPESCU T.A., MORARU G., ILEA V., MISSITS P., POPESCU E. — *Rev. Roum. Méd., Méd. int.*, 1976, *14*, 11.
VLIET P.D.U. — *New Engl. J. Med.*, 1966, *274*, 1102.
VLODAVER Z., EDWARDS J.E. — *Circulation*, 1971, *44*, 719.
VLODAVER Z., KAHN H.A., NEUFELD H.N. — *Circulation*, 1969 a, *39*, 541.
VLODAVER Z., MEDALIE J., NEUFELD H.N. — *J. Atheroscler. Res.*, 1968, *8*, 923.
VLODAVER Z., MEDALIE J., NEUFELD H.N. — *Israel J. Med. Sci.*, 1969 b, *5*, 639.
VOLKOVA K.G. — *Cor et Vasa*, 1963, *5*, 53.
VON EULLER U.S. — *Klin. Wschrft.*, 1935, *14*, 1182.
VOORS A.W., FOSTER T.A., FRERICHS R.R., WEBBER L.S., BERENSON G.S. — *Circulation*, 1976, *54*, 319.
VOORS A.W., WEBBER L.S., BERENSON G.S. — *Practical Cardiol.*, 1977 a, Mai, 29.
VOORS A.W., WEBBER L.S., BERENSON G.S. — *Amer. J. Epidemiol.*, 1977 b, *106*, 101.
VOROBIEVA L.P., BAZANOVA E.A., SUCIKOVA S.N. — *Kardiologhiia*, 1976, *16*/2, 41.
VUUST J., PIEZ K.A. — *J. biol. Chem.*, 1972, *247*, 856.
WAGH P.W., OLIVECRONA T. — *Atherosclerosis*, 1978, *29*, 195.
WAGH P.W., ROBERTS B.I. — *Biochemistry*, 1972, *11*, 4222.
WAHLQUIST M.L., DAY A.J., TUME R.K. — *Circulat. Res.*, 1969, *24*, 123.
WALD N.J. — *Lancet*, 1976, I, 136.
WALD N., HOWARD S., SMITH P.G., KJELDSEN K. — *Brit. Med. J.*, 1973, I, 761.
WALLENTIN L. — *Atherosclerosis*, 1978, *31*, 41.
WALTON K.W. — *Amer. J. Cardiol.*, 1976, *35*, 542.
WALTON K.W., SCOTT P.J. — *J. clin. Path.*, 1964, *17*, 627.
WALTON K.W., WILLIAMSON N., JOHNSON A.G. — *J. Path.*, 1970, *101*, 205.
WANG HUAN PAO — *Scientia Sinica*, 1964, *13*, 631.
WANG S.S., VIETH W.R. — *Biotechn. Bioengineer.*, 1973, *15*, 93.
WARREN B.A. — *J. Intern. Coll. Surg.*, 1965, *44*, 632.
WARREN B.A., JEYNES B.J., CHAUVIN W.J. — *Scann. Electr. Microsc.*, 1978, *2*, 441.
WEBER G., FABRINI P., FIGURA N., RESI L. — *Path. Europ.*, 1974 a, *8*, 303.
WEBER G., FABRINI P., RESI L. — *Virch. Arch. Path. Anat.*, 1974 b, *364*, 325.
WEBER G., FABRINI P., RESI L., JONES R., VESSELINOVITHCH D., WISSLER R. W. — *Atherosclerosis*, 1977, *26*, 535.
WEIBEL E. — *Z. Zellforsch.*, 1958, *47*, 440.
WEIGERT C. A. — *Virchows Arch. path. Anat.*, 1880, *79*, 87.
WEISGRABER K. H., MAHLEY R. W. — *J. biol. Chem.*, 1978, *253*, 6281.
WEISS H. J., LAGES B. A. — *Lancet*, 1977, I, 760.
WEISS H. J., TSCHOPP T. B., BAUMGARTNER H. R. — *New Engl. J. Med.*, 1975, *293*, 619.
WELLER R. O. — *J. Atheroscler. Res.*, 1966, *6*, 184.
WELLER R. O. — *J. Path. Bact.*, 1967, *94*, 171.
WELLER R. O., CLARK R. A., OSWALD W. B. — *J. Atheroscler. Res.*, 1968, *8*, 249.
WENNMALM A. — *Acta Physiol. Scand.*, 1978, *103*, 107.
WESTPHAL E. — Über Mastzele. G. Schade, Berlin 1880.
WEXLER B. C. — *Circulat. Res.*, 1964 a, *14*, 32.
WEXLER B. C. — *Circulat. Res.*, 1964 b, *15*, 485.
WEXLER B. C. — *J. Atheroscler. Res.*, 1969, *9*, 267.
WEXLER B. C. — *Lab. Invest.*, 1971, *25*, 60.
WEXLER B. C., GREENBERG B. P. — *Atherosclerosis*, 1978 a, *29*, 329.
WEXLER B. C., GREENBERG B. P. — *Atherosclerosis*, 1978 b, *29*, 373.
WEXLER B. C., JUDD J. T., LUTMER R. F., SAROFF J. — *Atherosclerosis*, 1971, *14*, 107.
WEXLER B. C., LUTMER R. F. — *Atherosclerosis*, 1975, *22*, 199.
WEXLER B. C., MILLER B. F. — *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1959, *100*, 573.
WHEREAT A. F. — *J. Lipid Res.*, 1966, *7*, 671.
WHEREAT A. F. — *Expt. mol. Pathol.*, 1967, *7*, 233.

Scanned with OKEN Scanner

WURSTER N. B., ZILVERSMIT D. B. — *Atherosclerosis*, 1971, *14*, 309.
YAMADA K. — *Histochemie*, 1970, *23*, 13.
YOUNG W., GOFMAN J. W., TANDY R. — *Amer. J. Cardiol.*, 1960 a, *6*, 294.
YOUNG W., GOFMAN J. W., TANDY R. — *Amer. J. Cardiol.*, 1960 b, *9*, 300.
YU S. Y. — în: Cowdry's Atherosclerosis, pp. 170—192 (H. T. Blumenthal, editor), Charles C. Thomas, Springfield, Ill. 1967.
YU S. Y. — *Lab. Invest.*, 1971, *25*, 121.
YU S. Y., BLUMENTHAL H. T. — *J. Atheroscler. Res.*, 1965, *5*, 150.
YU S. Y., BLUMENTHAL H. T. — în: The Connective Tissue, pp. 17—49 (B. M. Wagner și S. E. Lai, editori), Williams și Wilkins, Baltimore, 1967.
YUDKIN J. — *Lipids*, 1978, *13*, 370.
ZAMFIRESCU-GHEORGHIU M. — Izoenzime în patologie, Ed. Medicală, București, 1970.
ZAMFIRESCU-GHEORGHIU M., CHIRILOIU C., VLĂDESCU C. — *Rev. Roum. Méd. int.*, 1975, *13*, 31.
ZAMFIRESCU-GHEORGHIU M., ȘERBAN M., VLĂDESCU C., CHIRULESCU Z. — *Rev. Roum. Méd. int.*, 1967, *4*, 395.
ZEMPLENYI T. — *J. Atheroscler. Res.*, 1962, *2*, 2.
ZEMPLENYI T. — *J. Atheroscler. Res.*, 1967, *7*, 725.
ZEMPLENYI T. — Enzyme Biochemistry of the Arterial Wall as Realted to Atherosclerosis. Lloid-Luke, Londra, 1968.
ZEMPLENYI T. — *Med. Clin. North Amer.*, 1974, *58*, 293.
ZEMPLENYI T., JOLDA Z., MRHOVA O. — în: Atherosclerosis and Its Origin, pp. 459—473 (J. Sandler și G. H. Bourne, editori), Academic Press, New York, 1963.
ZEMPLENYI T., ROSENSTEIN A. J. — *Expt. mol. Pathol.*, 1975, *22*, 225.
ZHMINCENKO V. M., PIATNITSKI N. N., ȘUGONIAEVA V. P. — *Kardiologhtia*, 1978, *18*/3, 111.
ZIEGLER E. — *Virchows Arch. path. Anat.*, 1882, *90*, 211.
ZIKOVA V. P., AFONINA I. P., ZADOIA A. A. — *Kardiologhtia*, 1976, *16*/2, 68.
ZILVERSMIT D. B. — *Amer. J. Cardiol.*, 1975, *35*, 599.
ZILVERSMIT D. B., HUGUES L. B. — *Atherosclerosis*, 1973, *18*, 141.
ZILVERSMIT D. B., HUGUES L. B., BALMER J. — *Biochim. Biophys. Acta*, 1975, *409*, 393.
ZUGIBE F. T. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1962, *10*, 448.
ZUBIGE F. T. — *J. Histochem. Cytochem.*, 1963, *11*, 35.
ZUBIGE F. T., BROWN K. D. — *Circulat. Res.*, 1960, *8*, 287.

Scanned with OKEN Scanner

Redactor de carte: Conf. dr. GH. BADIU
Tehnoredactor: MARILENA TOMESCU

Bun de tipar: 20. I. 1981
Formatul: 16/70×100
Hîrtie: Scris I A 70×100/56
Coli de tipar: 23 1/2

Tiparul executat la Întreprinderea poligrafică Sibiu

Scanned with OKEN Scanner